JAPANESE JOURNAL OF BOTANY

PUBLISHED BY NATIONAL RESEARCH COUNCIL OF JAPAN

Vol. X No. 4

(Published March 25, 1940)

CONTENTS

TRANSACTIONS

ABSTRACTS

(Papers, of which the title only is cited, are marked with an *)

MATSUMOTO, T.: Two strains of Petunia mosaics .... (53)

TITLE-PAGES AND CONTENTS OF VOL. X

Inducing the flowering and the fruiting of sweet potato by water culture

By Tomota SUGAWARA

With 3 text-figures

(Received January 11, 1940)

Introduction

Sweet potato which has recently become one of the most important crops of Japan as the raw material for the brewing of alcohol, is cultivated widely in our country, and especially in Taiwan (Formosa) and Kyusyu districts. In the temperate zone this plant has rarely produced flowers and seeds under ordinary conditions, and this is the reason, why its cross-breeding was hitherto impossible in our country except in Ryukyu and Taiwan districts.

How an abundance of flowers of sweet potato may be produced has hitherto been studied by many investigators (1, 2, 3, 6, 9, 10, 11, 12, 15), and the following procedures have been reported as very efficacious for the purpose, viz. the photoperiodic treatment, the grafting on morning-glory or white-flowered gourd, the perennial culture under greenhouse condition. The author found, however, in summer of 1937, that the sweet potato plant could be induced to blooming by means of water culture, and similar results have thereafter been got by AKIMOTO and KONDÔ (1). If the sweet potato plant is easily induced to flowering and the seed setting by water culture, the cross may be usefully performed for the breeding of this plant, even in the middle part of Japan. The present experiment is undertaken to prove the effect of water culture on the flowering and fruiting of sweet potato.

Experimental procedure

Five varieties of *Ipomoea Batatas* LAM., namely, "Taihaku", "Genzi", "Yosida", "Kintoki" and "Sohara-aka" which are at present most important ones grown in Japan were used in this investigation. Healthy storage roots were gathered in the preceeding season, and before being

placed in the germinator the roots were soaked in 1/250 formaline for 30 minutes to destroy any fungus spore, which might accidentally be adhering to their surface and then thoroughly washed, and they were planted in soil in the greenhouse on March 15th 1939 and watered daily with tap water. On May 20th young stems which have grown out from original storage roots, were cut into pieces about 30 to 40 cm long, and they were carefully selected out for the uniformity of length and number of nodes.

The nine-liter enamel pot was fitted with bamboo-basket ("Mezaru") containing gravels and the stem pieces above indicated. The nutrient solution was a modification of KASUGAI's solution (4), and its composition is given in Tab. 1.

TABLE I. Composition of nutrient solution per liter.

Salts	Concen-tration	Composition					
		N	P_2O_5	K_2O	MgO	CaO	Fe_2O_3
	gm.	mgm.	mgm.	mgm.	mgm.	mgm.	mgm.
NH_4NO_3	0.0430	15.04					
KH_2PO_4	0.0360		20.10	12.45			
KCl	0.0440			27.98			
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.1750				30.10		
$Ca(NO_3)_2$	0.8800	15.02				30.07	2.95
$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	0.0010						
Total		30.06	20.10	40.43	30.10	30.07	2.95

In addition to the salts employed, a small amount of manganese and boron was given in the solutions. Preliminary test showed that 0.3–1.0 p.p.m. manganese in manganous chloride and 0.2–0.4 p.p.m. boron in boric acid were the optima for the growth, though lower p.p.m. was used in subsequent experiments. The p_H concentration of the solution varied from 6.0 to 6.4, chlorphenol red and bromthymol blue being used as indicators. The culture solutions were changed once per 3 days, and the transpiration loss was compensated by the addition of tap water during the latter part of the growing period.

Experimental results

On June 1st, the pots in which the materials have grown were classified into three groups, and the plants of each group were set under greenhouse, glass-house and outdoor conditions respectively. The glass-

house plants were placed in the net-house in day-light hours, and at the time of wind or rain. As soon as the vines began to grow, they were trained to the trellis made of wire in order to let each shoot receive



Fig. 1. Flowers of sweet-potato plant, which have grown in nutrient solution under greenhouse condition. (Var. "Taihaku")

plenty of air and light. On July 20th, it was found that the flowering occurred on both glass-house and outdoor plants of the variety "Taihaku"

(Tab. 2). At that time, plants put in the greenhouse grew more rapidly than under other conditions, but they produced no flowers at all.

TABLE 2. Average number of flowers, fruits and seeds per plant of sweet potato which has been cultured in nutrient solutions.

Conditions	Varieties	Date of first blooming	June—September				October—December			
			Number of flowers	Number of fruits	%	Average number of seed per fruit	Number of flowers	Number of fruits	%	Average number of seeds per fruit
	Taihaku	26/7	31.0	0.0	—	—	13.0	0.0	—	—
	Kintoki									
Outdoor	Genzi	28/10					6.0	0.0	—	—
	Sohara-aka									
	Yosida									
	Taihaku	20/7	48.0	0.0	—	—	18.0	0.0	—	—
	Kintoki									
Glass-house	Genzi	3/11					1.6	0.0	—	—
	Sohara-aka									
	Yosida									
	Taihaku	2/10					95.6	2.2	2.30	2
	Kintoki									
Greenhouse	Genzi	1/11					18.2	0.8	4.39	3
	Sohara-aka									
	Yosida	1/12					7.0	0.2	2.85	1

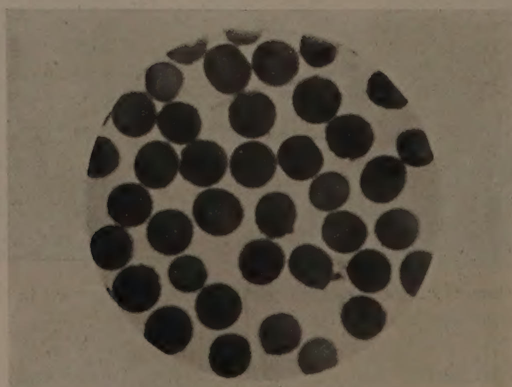


Fig. 2. Pollen grains of sweet potato. (Var. "Taihaku". ca. ×50)

At the beginning of October, many lower leaves of the plants began to become brown and died off, and the shoots or the upper leaves took on a slightly yellowish green appearance, which usually will indicate the accumulation of abundant carbohydrate reserve in the shoots. When

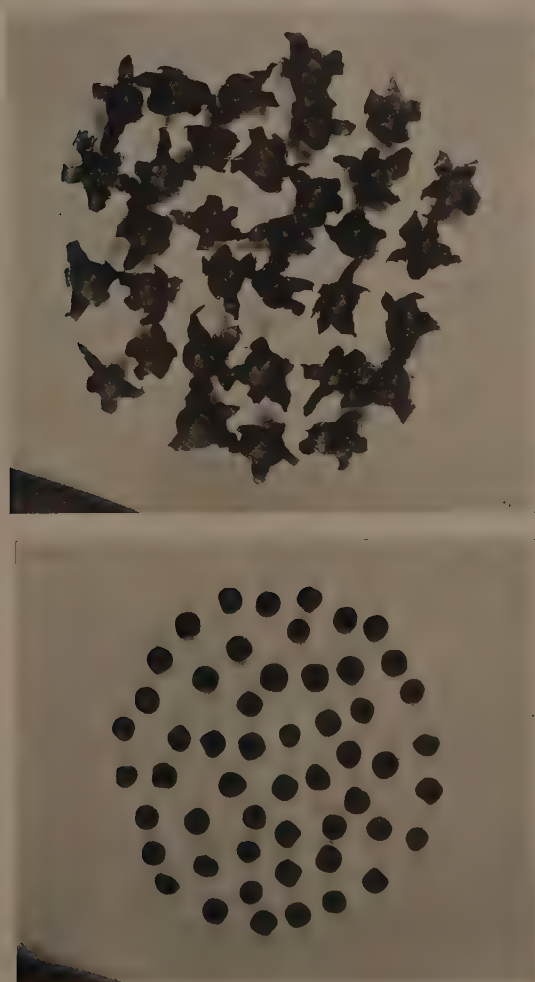


Fig. 3. Fruits and seeds got by self-pollination. (Var. "Taihaku". Life size)

the sweet potato plants are cultivated in nutrient solutions, they will of course produce no storage roots. During this stage, the variety "Taihaku"

grown in the greenhouse has produced many flowers; and about 85 percent of pollen grains were found to be fertile, and seeds were set by self-pollination (Fig. 2–3). On the plants of the variety "Genzi" placed also in greenhouse, the first blooming was seen in November, and the flowering condition extended to the next month. On December 1st, the variety "Yosida" has also borne flowers, and they were crossed by the pollen of other varieties for breeding purpose. Seeds from these crosses were harvested in December and the next January.

Flowers and seeds of sweet potato are similar to those of morning glory. Buds commonly begin to expand in the evening and open between five and seven o'clock in the following morning, or a little later on cool day, and the corolla commonly closes up in the afternoon. Ordinarily about two weeks elapse between the first appearance of bud and the opening of corolla. The order of flowering is basipetal and continues for a month or more.

Of course, the ability to produce flowers and set seed is a characteristics of each variety, because some of the useful varieties, such as "Kintoki" and "Sohara-aka" are almost impossible to be induced to the flowering by means of water culture, even in the greenhouse.

Discussion

The abundant flowering of certain varieties of sweet potatoes at Taiwan and Ryukyu district, has made it possible to carry on the breeding experiments intended for the production of improved varieties. In almost all regions of the warmer temperate zone of Japan, even in the places where it is cultivated as an important crop, the sweet potato has rarely produced flowers and set seeds under ordinary conditions, as above noticed. It may therefore be concluded that the subtropical climate such as in Taiwan and Ryukyu are important factores for the flowering of sweet potato. Many workers have noticed that the methods of inducing blooming and seed setting in sweet potato consists in photoperiodic regulations, grafting on other species of *Ipomoea*, treatment such as root pruning, and vine girdling, perennial cultures in the greenhouse. According to these results hitherto obtained, the photoperiodic regulation and the grafting on morning-glories or white-flowered gourd have proved to be most efficacious for the purpose (1, 2, 3, 6, 10, 11). In the present experiments it was however proved that certain varieties of sweet potatoes can be induced to the flowering and the fruiting by means of water culture and besides similar results were obtained by AKIMOTO and KONDÔ (1), basing in their experiment on certain varieties. On the other hand, these results indicated that when the sweet-potato plants are

cultivated in the nutrient solutions, the storage root is not developed in water. It may therefore be considered that certain amount of carbohydrates which ordinarily will be translocated to the storage roots have accumulated in the shoots on account of the defect of the former during the growing period, whence the flowering and the seed setting will result. Since the concentration of carbohydrates in the shoots is, as usually considered, an important factor to produce the flower-bud, the formation of large quantities of carbohydrate reserves in this part will be extremely favorable for inducing the blooming. In general, the restrict of the storage roots formation by such methods as root pruning, grafting on other species of *Ipomoea* and the extreme dryness of soil is very effective for the blooming. It is just the same in the case of the cultivation in the nutrient solution. It may be remarked that the plant will blossom plentifully when the shoots are trained to a trellis, as performed by us in order to let each shoot receive plenty of air and light.

Considerable effort was made in vain to produce the flowering in some of the leading varieties in Japan which did not flower naturally. Success was not attained by photoperiodic regulation or any other treatments (11, 15). Negative results were obtained in the present experiments also with some of the Japanese varietes, such as "Kintoki" and "Sohara-aka": it has been scarcely possible there to obtain flowers and seeds by means of water culture even in the greenhouse. It is quite certain that whether any variety is able to produce flowers and seeds or not, constitutes its inherent property.

Summary

1) Studies for inducing the flowering and the fruiting of sweet potato plants by means of water culture were done. Five varieties used for this experiments were "Taihaku", "Kintoki", "Genzi", "Sohara-aka" and "Yosida", and these plants were placed under outdoor, glass-house and greenhouse conditions respectively.

2) During the summer, some of the varieties could be induced to flowering by means of water cultures. In the latter part of the growing period, which extends from the beginning of October to December, "Taihaku", "Genzi" and "Yosida" grown in greenhouse produced many flowers and set seeds both by self- and cross-pollination.

3) The ability to produce flowers and seed is a varietal characteristics, so that in some varieties, such as "Kintoki" and "Sohara-aka" it has been scarcely possible to obtain the flowering and the seeds even by water culture in greenhouse.

The autor wishes to express his sincere thanks to Prof. Y. NOGUTI for his kindness in suggesting the subject of investigation as well as for his kind advice throughout the work.

LABORATORY OF AGRONOMY, FACULTY OF AGRICULTURE,
TOKYO IMPERIAL UNIVERSITY.

Literature cited

(1) AKIMOTO, S., and KONDÔ, G.: Kansyo no Kaika-sokusin ni kansuru nisan-no Zikken. Agr. and Hort. **14**: 993, 1939.
(2) HAGIWARA, H., and ISIBASI, K.: Kansyo no Kaika-sokusin ni kansuru Zikken. Agr. and Hort. **14**: 2489, 1939.
(3) HIRAMA, S.: Cross breeding varieties and strains of sweet potatoes. Formosa Dept. Agr. Rpt. **320**: 631. 1929.
(4) KASUGAI, S.: On methods of water culture of sweet-potato plant. Proc. Crop Sci. Soc. Japan **7**: 12, 1935.
(5) MATUNAGA, K.: Kansyo no Sin-hinsyu Ikusei Siken. (Breeding experiments of sweet potato). Agr. and Hort. **9**: 1159, 1934.
(6) McCLELLAND, T. B.: Studies of the photoperiodism of some economic plants. Jour. Agr. Res. **37**: 603, 1928.
(7) MEDIOLA, N. B.: Two years of sweet potato breeding. Philippine Agr. **10**: 177, 1921.
(8) MILLER, J. C.: Further studies of mutations of the Port-Rico sweet potato. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. **343**, 1935.
(9) ———,: Inducing the sweet potato to bloom and set seed. Jour. Hered. **28**: 347, 1937.
(10) NODA, K.: Taiwan-Kansyo Hinsyu no Bunrui to sono Kaika-seiri ni kansuru Kenkyu. Jour. Taihoku Soc. Agr. Forest. Tokubetuhokoku. No. **1**, 1936.
(11) SIGEMURA, T., TAKAHASI, T., and KAKIHARA, K.: Sweet potato breeding by seeds, with artificial induction of blooming. Proc. Crop Sci. Soc. Japan. **10**: 281, 1938.
(12) SUGAWARA, T.: Kansyo no Suiko Zikken. (Water-culture experiment of sweet potato). Agr. and Hort. **13**: 185, 1938.
(13) TERAO, H.: Cross-sterile group in varieties of sweet potato. Agr. and Hort. **9**: 1163, 193.
(14) TIOUTINE, M. G.: Breeding and selection of sweet potatoes. Jour. Hered. **26**: 3, 1935.
(15) WATANABE, K.: Über das Blühen der Süsskartoffel auf den japanischen Hauptinseln. Proc. Crop Sci. Soc. Japan. **10**: 322, 1938.
(16) ———,: Über die Blüte der Süsskartoffel. Proc. Crop. Sci. Soc. Japan. **11**: 135, 1939.

Studies on the polyploidy in *Nicotiana* induced by the treatment with colchicine

II. Growth rate and chemical analysis of diploid and its autotetraploid in *Nicotiana rustica* and *N. Tabacum*

By Yakiti NOGUTI, Hideto OKA and Takayosi ÔTUKA

(Central Research Institute, Japanese Government Monopoly Bureau)

With 10 text-figures

(Received January 20, 1940)

Introduction

The most striking properties of autotetraploid plant are the morphological and physiological change of its characters. Thus both the decrease of the development rate (16, 25, 31) and the increase of chemical substance in the cell (17, 31) are widely noted, and consequently MÜNTZING (25) concluded in his discussion of autotetraploids that they have generally new physiological properties and new reaction norms. Thus the physiological study of autotetraploid has recently become one of the most important subjects of investigation. The data reported here refer to our researches on the influence of chromosome doubling on the physiological characters in *Nicotiana* species.

Materials and methods

Of the autotetraploid plants of *Nicotiana rustica* var. *brasilia*, *N. Tabacum* var. *Yellow Orinoco* and var. *Kokubu*, which were produced by the colchicine treatment, the phenomena such as germination of seed, growth of plant, flowering and fruiting were studied, and moreover, the chemical analysis was made. All the experiments on the pot culture plants and the chemical analysis were undertaken in the Central Research Institute in Tokyo, but the observations on the field culture were done independently in the Experiment Station of Japanese Government Mono-

poly Bureau, which is situated near the place considered as the most suitable one for the cultivation of each variety.

The sample for chemical analysis in the study of *N. rustica* was prepared by cutting the leaves of plant and drying them in air or for 40 hours at 60°C in thermostat. Flue-cured leaves were the sample for the chemical study of *N. Tabacum*. The methods of analysis used in this investigation are as follows:

Water content. 2 grams of sample were heated for 3 hours in an electric thermostat at 65°C and then for 30 minutes at 80°C. The difference of the weight before and after the operation was studied.

Determination of nitrates. The modified GUNNING method was adopted.

Nicotine content. 1% sodium hydroxide solution is added to 5 grams of sample. Distilled rapidly in a current of steam. The distillate is mixed with saturated solution of picric acid to form the precipitation of nicotine picrate, to which 1% sodium hydroxide is added after filtering. Distilled once more and nicotine is determined with 1/10 N sulphuric acid solution.

Reducing sugar. The extract residue with ether is soaked in 65% alcohol for one hour. Alcohol is removed and the precipitate is got by adding basic lead acetate solution. Then anhydrous sodium carbonate is added to precipitate all lead. After filtering, the reducing sugar is determined by BERTRAND method with the residual solution.

Total sugar. By hydrolysis total sugar is inverted into reducing sugar with 25% hydrochloric acid, then determined.

Total non-volatile acidity. 5 grams of sample are mixed with dilute hydrochloric acid to form a homogeneous mass. Extracted with ether for 30 hours in a SOXHLET extractor. Ether is removed by the addition of boiling water. The solution made to a volume 250 c.c. is titrated for acidity with 1/10 N alkali. Silver nitrate is added to the solution to precipitate silver chloride. Silver nitrate is titrated with potassium rhodanide. Chlorine is determined and its acid equivalent is subtracted from the alkali titration.

Ether extract. 5 grams of sample are taken and the fat is extracted with ether for 25 hours in a SOXHLET extracter. Ether is removed.

Resin. Water soluble matter, as well as wax and rubber, which are insoluble in 95% alcohol are removed from the ether extract, and then alcohol is evaporated.

Inorganic compounds. 5 grams of dry material are taken and burnt at a low heat not exceeding dull redness until free from carbon. Sulphuric acid, phosphorous, calcium, potassium and magnesium in the ash are determined.

Experimental results

1. Observation of plant growth

(1) *N. rustica* var. *brasilia*

a) Pot culture. Seeds from the tetraploid were for a great deal wrinkled and abortive, so they germinated slowly and irregularly, and required more than ten days to complete the emergency above ground in spite of their larger size in comparison with those of the diploid, which

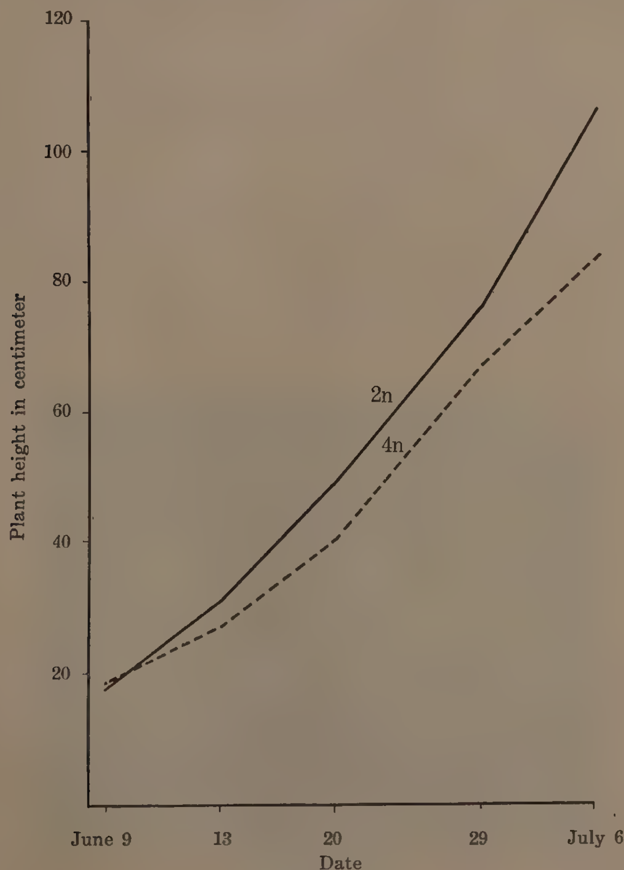


Figure 1. Growth rate of diploids and tetraploids in *N. rustica*.

needed only five days for complete germination. An abundant malformation was observed in the seedling stage. The retardation of growth is one

of the remarkable characteristics of tetraploids as reported in the previous paper. The growth rate changed by the chromosome doubling is indicated in Tab. 1 and Fig. 1.

TABLE 1. Growth rate of diploids and tetraploids in *N. rustica* (Plant height in cm).

	June 6	13	20	29	July 6
Diploid	17.5	31.8	49.3	76.5	104.5
Tetraploid	17.8	27.7	41.0	68.0	85.1

Average of five plants, which were sown on 10th of February and transplanted 5th May, 1939.

At the beginning of growing stage no difference in the plant height between diploid and tetraploid was recognized, but in the former its growth rate has increased gradually, so that the diploid came into full blooming about one week faster than the latter, at the beginning of July. The dimension of leaves, however, changed in other way. The size of the largest leaf measured at various times is given in Tab. 2, from

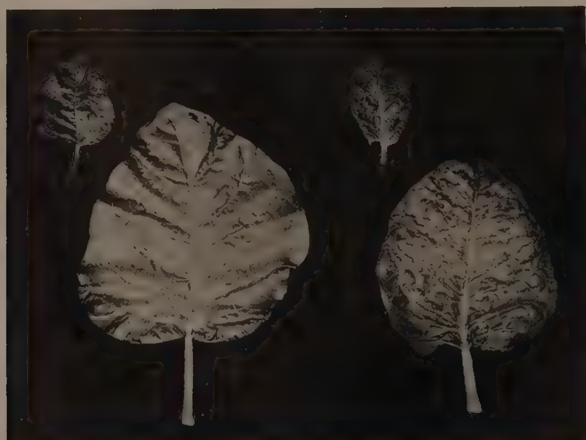


Figure 2. Leaves of diploid (left) and tetraploid (right) in *N. rustica*.

which it is clearly seen that the leaves of the tetraploid are generally smaller than those of the diploid and even the largest one has only an half area of diploid one at the end of vegetation (Fig. 2).

TABLE 2. Size of the largest leaf in diploids and tetraploids in *N. rustica* (cm).

	June 6		13		20		29		July 6		13		Ratio		Index
	Length	Breadth	Length	Breadth	Length	Breadth	Length	Breadth	Length	Breadth	Length	Breadth	Length	Breadth	Length : Breadth
Diploid	35.8	21.8	39.3	35.8	42.7	26.7	45.2	31.0	46.0	31.3	46.7	32.0	100	100	1.45
Tetraploid	27.1	18 2	29.3	19 3	31.1	20.1	32.6	22.3	33.8	23.1	33.6	23.3	71	72	1.44

Average of five plants.

It was reported by KOSTOFF (20) that the leaf of the tetraploid developed more rapidly in breadth than in length, but such a tendency was not found in this case. An extraordinary increase of leaves in thickness, on the contrary, was observed in the tetraploid, as indicated in our first report. The decrease of total number of leaves (Tab. 3) and branches was also the characteristics in the tetraploid.

TABLE 3. Total number of leaves in diploids and tetraploids of *N. rustica*.

	June 6	13	20	29	July 6
Diploid	14.5	18.0	23.5	26.5	29.0
Tetraploid	12.3	15.6	19 3	21 3	24.3

Average of five plants.

b) Field experiment. Over one hundred and fifty tetraploids were grown in the experimental field of the Hatano Experiment Station at Hatano near Tokyo, and exactly the same type of development as in pot culture was observed, except the narrowness of leaves. The irregularity of growth and the appearance of dwarfness were similarly found in the culture of the tetraploids. Tab. 4 shows the state of their growth, compared to that of diploids cultured under the same condition.

TABLE 4. Growth of diploids and tetraploids in *N. rustica* in the field (cm).

	Height	Leaf number*	Largest leaf		Ratio		Index
			Length	Breadth	Length	Breadth	Length:Breadth
Diploid	118.4	19.6	41.6	31.3	100	100	1.32
Tetraploid	91.7	15.7	34.5	23.6	82	75	1.47

Average of five plants. * Number of leaves harvested.

(2) *N. Tabacum* var. *Yellow Orinoco*

a) Pot culture. The comparative study of diploids and tetraploids in this variety has been done on a large scale in the field under the best condition. The results of pot culture are almost identical to the observation in the field experiment, so that the description of the pot culture will be omitted here (Fig. 3).



Figure 3. Pot cultured diploid (left) and tetraploid (right) in *N. Tabacum* var. *Yellow Orinoco*.

b) Field experiment. This was carried out in the field of the Okayama Experiment Station in Okayama Prefecture, and the heavy drought which happened in that district in the summer of 1939 has had but a slight influence over the growth of plant. 500 seeds from each of diploid and tetraploid were sown on 22nd February. Ths irregularity of seed germination had also been observed in the tetraploid and 33 per cent of seeds may be thought to have germinative power, which needed over one week to become visible on the soil surface. A few seedlings have shown such malformations as having one or three cotyledons, but generally, two cotyledons and the first leaf were larger and greener than those of

diploids. The retardation of growth appeared gradually in the progress of time and in the four- or five-leaved stage, about forty days after sowing, it became quite clear. In spite of the transplantation of tetraploid seedlings a week later, the difference of dimension between diploid and tetraploid was considerable in that stage as shown in Tab. 5.

TABLE 5. Seedlings of diploids and tetraploids in the stage of transplantation in *N. Tabacum* var. *Yellow Orinoco* (cm).

	Height of seedling	Largest leaf		Total leaf number
		Length	Breadth	
Diploid	3.9	16.6	9.1	12.0
Tetraploid	2.4	16.0	10.0	9.5

Average of five plants.



Figure 4. Diploids (right) and tetraploids (left) of *N. Tabacum* var. *Yellow Orinoco* cultivated in the field.

The delay of growth in tetraploid became large in the field, owing in part to the late planting (Fig. 4). The rate of plant growth, as indicated by the height and the largest leaf is given in Tab. 6, 7 and Fig. 5.

TABLE 6. Growth rate of diploids and tetraploids in *N. Tabacum* var. *Yellow Orinoco* (Plant height in cm).

	April 24–28	May 26	31	June 13	19	26	July 3
Diploid	3.9	17.9	24.7	74.4	84.5	114.2	—
Tetraploid	2.4	12.0	17.3	42.7	64.0	92.4	95.0

Average of five plants.

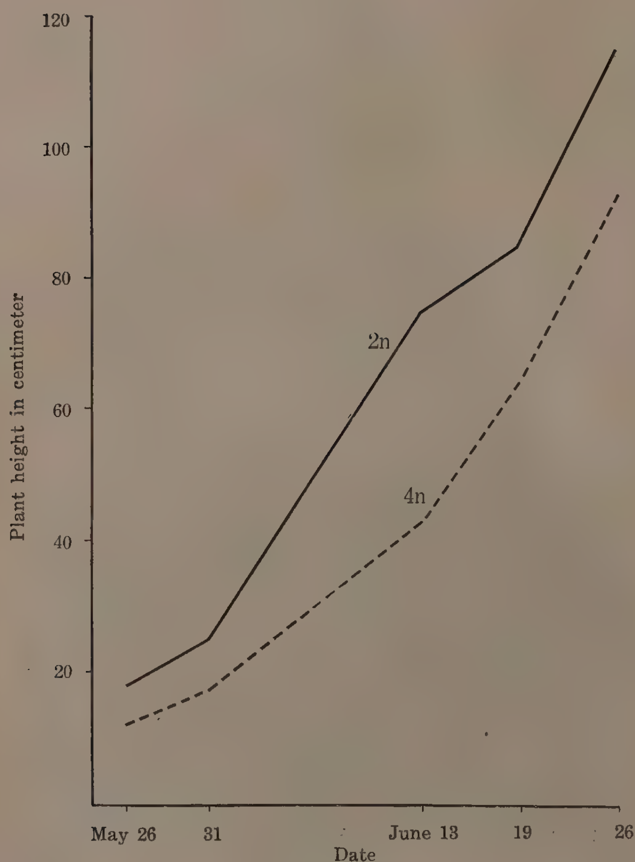


Figure 5. Growth rate of diploids and tetrapioids in *N. tabacum* var. *Yellow Orinoco.*

TABLE 7. Size of the largest leaf in diploids and tetraploids in *N. Tabacum* var. *Yellow Orinoco* (cm).

	April 24–28		May 26		June 31		June 13		19		26		July 3		Ratio		Index
	Length	Breadth	Length	Breadth	Length	Breadth	Length	Breadth	Length	Breadth	Length	Breadth	Length	Breadth	Length	Breadth	Length: Breadth
Diploid	16.6	9.1	33.5	14.6	38.9	17.0	47.5	21.4	52.4	21.5	52.6	22.3	59.0	21.6	100	100	2.73
Tetraploid	16.0	10.0	27.0	12 6	30.1	14 2	37.0	18.2	43.5	18.7	49.0	20.2	53.0	20.8	90	96	2.54

Average of five plants.

The elongation of stem occurred at the beginning in diploid, while in tetraploid, on the contrary, it occurred at the end of development. Even at harvest time the largest leaf of tetraploid was smaller 10 per cent in length and 4 per cent in breadth (Fig. 6). The thickness of leaves, however, increased extraordinarily, i.e. about 30 per cent, caused by the extreme development of sclerenchyma and parenchyma. A tendency of wilting shown in the sunshine was one of the remarkable characteristics of tetraploid plant observed in this stage. On June 22, the diploids started to blooming, but the tetraploid came to begin flowering between 28th June and 3rd July irregularly (Fig. 7). Only a slight difference was found in the total number of leaves between diploid and tetraploid (Tab. 8).

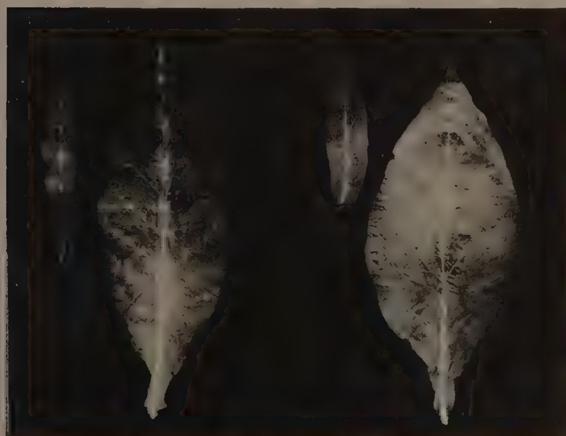


Figure 6. Leaves of diploids (left) and tetraploids (right) in *N. Tabacum* var. *Yellow Orinoco* (frue cured leaves).

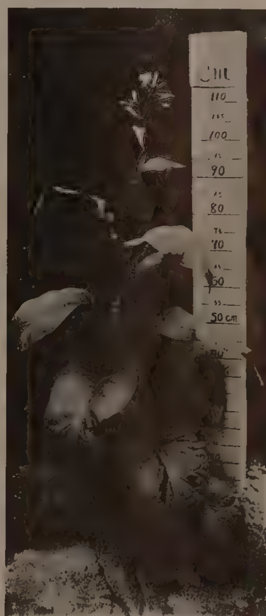


Figure 7. Tetraploid in *N. Tabacum* var. *Yellow Orinoco* cultivated in the field.

TABLE 8. Total number of leaves in diploids and tetraploids in *N. Tabacum* var. *Yellow Orinoco*.

	April 24—28	May 26	31	June 13	19	26	July 3
Diploid	12.0	21.0	27.0	31.0	31.0	31.0	31.0
Tetraploid	9.5	18.6	22.0	29.4	29.4	29.6	29.6

Average of five plants.

(3) *N. Tabacum* var. *Kokubu*

a) Pot culture. Large quantities of tetraploid seeds were abortive and not able to germinate, so the percentage of germination was unexpectedly low. The change of plant height in both the diploid and tetra-

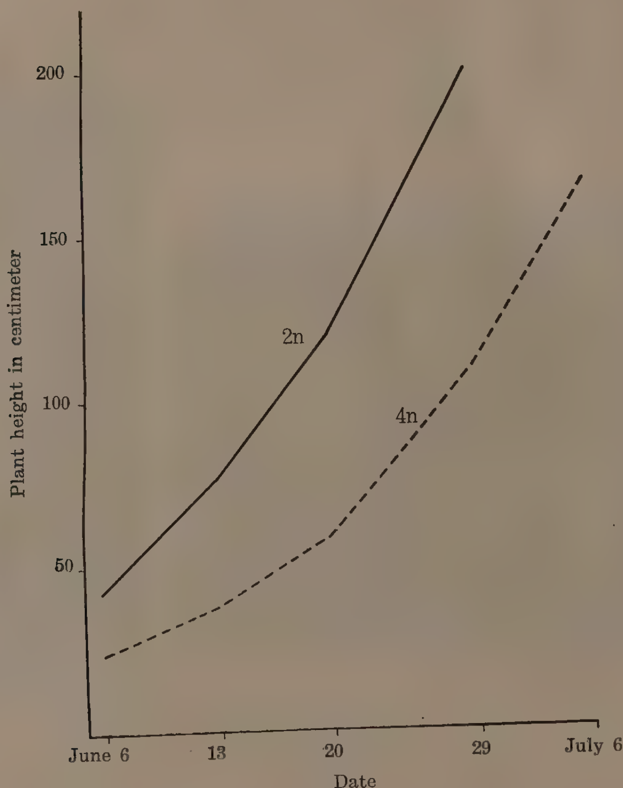


Figure 8. Growth rate of diploids and tetraploids in *N. Tabacum* var. *Kokubu*.

ploid seen in growing period is given in Tab. 9 and Fig. 8, in which we can feel a keen interest in the parallelism of their respective development

TABLE 9. Growth rate of diploids and tetraploids in *N. Tabacum* var. *Kokubu* (plant height in cm).

	June 6		13		20		29		July 6		13		Ratio		Index
	Length	Breadth	Length	Breadth	Length	Breadth	Length	Breadth	Length	Breadth	Length	Breadth	Length	Breadth	Length : Breadth
Diploid	30.0	27.4	32.5	29.6	33.8	30.3	34.9	30.8	35.8	32.6	36.6	33.6	100	100	1.08
Tetraploid	23.2	21.6	27.1	23.6	29.5	23.1	29.9	24.3	33.0	26.5	34.6	26.5	94	78	1 30

Average of five plants.

Tab. 10 shows the comparison of the largest leaf in a plant and it could be supposed from the data that the leaves of tetraploid were smaller than those of diploid, especially in breadth (Fig. 9).

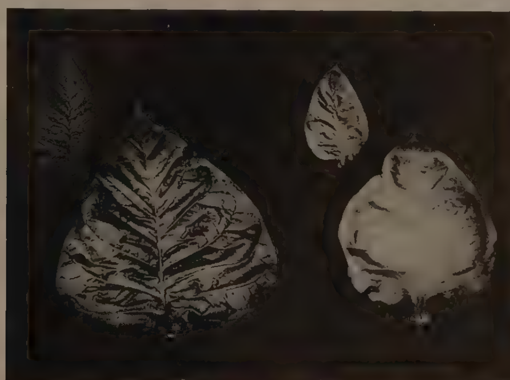


Figure 9. Leaves of diploid (left) and tetraploid (right) in *N. Tabacum* var. *Kokubu*.

TABLE 10. Size of the largest leaf in diploids and tetraploids in *N. Tabacum* var. *Kokubu* (cm).

	June 6	13	20	29	July 6
Diploid	42.1	75.5	118.5	199.6	—
Tetraploid	23.7	37.3	58.1	108.3	165.6

Average of five plants.

Their thickness, however, has extraordinarily increased as in other varieties. The number of leaves was smaller in tetraploid at the begin-

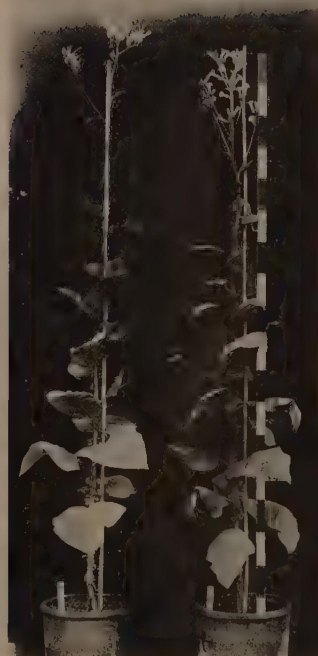


Figure 10. Pot cultured diploid (left) and tetraploid (right) in *N. Tabacum* var. *Kokubu.*

ning, but increased gradually and surpassed that of diploid at the end (Tab. 11).

TABLE 11. Total number of leaves in diploids and tetraploids in *N. Tabacum* var. *Kokubu*

	June 6	13	20	29	July 6
Diploid	18.6	24.3	28.3	28.3	28.3
Tetraploid	16.3	22.6	29.3	32.6	32.6

Average of five plants.

The chromosome doubling caused also the late and irregular blooming (Fig. 10).

b) Field experiment. The investigation was undertaken in the Kagosima Experiment Station in Kagosima Prefecture, in southern part of Japan. The type of growth (Tab. 12) in tetraploid almost coincides with that of the pot culture. The tetraploid plants also suffer easily by the heavy drought in the field.

TABLE 12. Growth of diploids and tetraploids in *N. Tacacum* var. *Kokubu* in the field.

	Date of trans-plant	Date of bud-ding	Plant height (cm)	Dia-meter of stem	Largest leaf		Index	Total number of leaf	Color of leaf	Surface of leaf
					Length	Breadth	Leng. : Bread.			
Diploid	April 28	June 17	186.0	5.9	30.8	28.7	1.07	24.0	Green	normal
Tetraploid	May 5	July 8	155.0	8.7	33.2	26.1	1.27	29.0	dark	rough

Average of five plants.

II. Chemical analysis

(1) *Dry matter*

The plants, which were cultivated in pot, were cut and dried at

60°C for 40 hours in an electric thermostat. A slight increase of dry matter is found in the tetraploid in all cases (Tab. 13).

TABLE 13. Percentage of dry matter in diploids and tetraploids.

	Dry matter (%)	Water content (%)
Diploid *N. rustica* var. *brasilia*	8.42	91.58
Tetraploid ,, ,, ,,	9.25	90.75
Diploid *N. Tabacum* var. *Yellow Orinoco*	12.19	87.81
Tetraploid ,, ,, ,,	12.78	87.22
Diploid *N. Tabacum* var. *Kokubu*	11.89	88.11
Tetraploid ,, ,, ,,	12.15	87.85

Average of five plants.

And the same fact is also seen in the plants of field experiment in *N. Tabacum* var. *Yellow Orinoco* (Tab. 14).

TABLE 14. Percentage of dry matter in diploids and tetraploids in *N. Tabacum* var. *Yellow Orinoco*.

	Fresh weight (g)	Dry matter %)	Water content (%)
Diploid	244	17.64	82.36
Tetraploid	108	18.52	81.48

Average of three plants (upper part).

(2) *Nicotine content*

It was already reported by the authors that a considerable increase of nicotine amount has taken place, owing to the doubling of chromosome in *Nicotiana* species. Concerning seven diploids and twelve tetraploids of *N. rustica*, which were cultured in pot, the nicotine content was determined separately and the results are shown in Tab. 15.

TABLE 15. Nicotine content of diploids and tetraploids in *N. rustica* var. *brasilia*.

	Diploid	Tetraploid	
	Nicotine (%)		Nicotine (%)
No. 1	3.35	No. 1	2.50
No. 2	3.61	No. 2	2.93
No. 3	3.63	No. 3	3.95
No. 4	3.79	No. 4	4.02
No. 5	3.86	No. 5	4.28
No. 6	4.00	No. 6	4.68
No. 7	4.34	No. 7	4.72
		No. 8	5.42
		No. 9	5.59
		No. 10	6.24
		No. 11	6.54
		No. 12	7.41
Mean	3.80		4.86

The tetraploids contained nicotine, about 27.9 per cent more in average, though the deviation is larger than that of diploids. A positive correlation is found in the tetraploid between the growth of plant and the nicotine content, and the greater the plant development, the larger its nicotine content. Just the same result was also obtained in the investigation of *N. rustica* and *N. Tabacum*, which were cultivated in the field (Tab. 16), and the rate of increase of nicotine content in the different parts of plant in the tetraploid is 28, 19 and 33 per cent in upper, middle and lower leaves respectively in *N. rustica*, and 18 and 26 per cent in upper and middle leaves respectively in *N. Tabacum*.

TABLE 16. Nicotine content of diploids and tetraploids in *N. rustica* and *N. Tabacum* grown in the field.

	N. rustica var. *brasilia*				*N. Tabacum* var. *Yellow Orinoco*			
	Diploid		Tetraploid		Diploid		Tetraploid	
	Nicotine (%)	Ratio	Nicotine (%)	Ratio	Nicotine (%)	Ratio	Nicotine (%)	Ratio
Upper parts	4.308	100	5 527	128	5.707	100	6.715	118
Middle parts	4.351	100	5.204	119	3.927	100	4.947	126
Lower parts	4.111	100	5.495	133	—	—	—	—

Of course, the materials are mixed up with normal and deformed plants, so if only the normal ones had been investigated, the content increase might have been extraordinarily great.

(3) *Content of organic acid.*

Of the plants of *N. rustica*, which were cultivated in pot and field, the determination of organic acid was made and the results indicated in Tab. 17 were got. The organic acid has also increased owing to chromosome doubling.

TABLE 17. Content of organic acid of diploids and tetraploids in *N. rustica*.

	Pot culture		Field culture	
	Organic acid (%)	Ratio	Organic acid (%)	Ratio
Diploid	14.52*	100	21 54	100
Tetraploid	17.75	122	23.19	107

* Lower leaves.

The fact is confirmed by the analysis of *N. Tabacum* var. *Yellow Orinoco* grown in field as shown in Tab. 18.

TABLE 18. Content of organic acid in diploids and tetraploids in *N. Tabacum* var. *Yellow Orinoco*.

	Middle leaves I		Middle leaves II		Upper leaves I		Upper leaves II	
	Organic acid (%)	Ratio	Organic acid (%)	Ratio	Organic acid (%)	Ratio	Organic acid (%)	Ratio
Diploid	11.47	100	8.85	100	9 83	100	8.81	100
Tetraploid	14.51	126	19.10	215	15.98	162	15.94	180

I .... medium quality, II .... good quality.

(4) *Other organic substances.*

After frue-curing the leaves of 20 diploids and 100 tetraploids of *N. Tabacum* var. *Yellow Orinoco* cultivated in field were divided into three parts according to their situation on stem, as lower, middle and upper part, and the material was again separated into two classes as middle part I (medium quality) and II (good quality) and upper part I (medium quality) and II (good quality) for carrying out the analysis. The results are given in Tab. 19.

TABLE 19. Chemical compositions of diploids and tetraploids in *N. Tabacum* var. *Yellow Orinoco*. I. Organic substances.

	Total nitrogen		Reducing sugars		Total sugars		Total ether extract		Total resin	
	(%)	Ratio	(%)	Ratio	(%)	Ratio	(%)	Ratio	(%)	Ratio
Diploid middle leaves I	1.514	100	18.43	100	24.72	100	9.553	100	7.083	100
Tetraploid middle leaves	2.285	150	3.81	20	10.52	42	11.972	125	9.571	135
Diploid middle leaves II	1.426	100	21.79	100	25.81	100	8.968	100	6.697	100
Tetraploid middle leaves	1.978	138	8.74	25	14.12	54	11.307	126	8.583	128
Diploid upper leaves I	1.814	100	11.13	100	18.15	100	12.817	100	8.470	100
Tetraploid upper leaves	2.953	162	3.17	28	7.10	39	15.192	118	11.912	140
Diploid upper leaves II	1.635	100	13.31	100	21.69	100	12.360	100	4.747	100
Tetraploid upper leaves	2.448	149	5.13	38	10.65	49	15.139	122	8.688	183

In the tetraploid the total nitrogen, ether extract and resin in each part increased about 38–62, 18–26 and 28–83 per cent respectively. On the other hand, the content of sugar, both total and reducing, in the tetraploid is extraordinarily low, especially the latter.

(5) *Inorganic substances*

The increase of soluble ash was found in tetraploid, but sulphuric acid decreased. In respect to the content of important chemical substances, such as calcium, potassium and magnesium, the tetraploid exceeded the diploid as indicated in Tab. 20.

TABLE 20. Chemical compositions of diploids and tetraploids in *N. Tabacum* var. *Yellow Orinoco*. Inorganic substances.

	Soluble ash		Sulphuric acid (SO_3)		Phosphorus (P_2O_5)		Calcium (CaO)		Potassium (K_2O)		Magnesium (MgO)	
	%	ratio	%	ratio	%	ratio	%	ratio	%	ratio	%	ratio
Diploid middle leaves I	10.108	100	1.817	100	0.482	100	3.405	100	—	—	1.977	100
Tetraploid middle leaves I	13.566	134	1.659	91	0.444	92	5.015	147	—	—	2.855	144
Diploid middle leaves II	8.638	100	1.680	100	0.480	100	3.150	100	1.290	100	1.701	100
Tetraploid middle leaves II	14.153	163	1.530	91	0.340	70	6.170	195	1.530	118	2.019	119
Diploid upper leaves I	9.840	100	1.903	100	0.749	100	3.147	100	0.985	100	1.159	100
Tetraploid upper leaves I	9.960	107	1.615	84	0.655	87	4.668	148	1.500	152	1.683	165
Diploid upper leaves II	9.931	100	1.872	100	0.492	100	3.138	100	1.649	100	2.336	100
Tetraploid upper leaves II	13.002	131	1.499	80	0.353	72	4.870	155	1.897	115	2.998	128

Discussion

A number of observations have been made hitherto on the peculiarities of the plant, which are caused by the increase of chromosome sets, and besides the retardation of growth is widely noticed as its most remarkable physiological change. The triploid individuals of *Crepis capillaris* were found to be much more slowly growing than the diploid (26), and *Oenothera Lamarkiana gigas* had a greater tendency to be biennial than *Lamarkiana* (27, 40, 42). The increase of chromosome sets prolonged the vegetation period and delayed the seed setting in *Nasturtium* (24) and the ripening of seeds on tetraploid plant was slow in *Allium* (22). Just the same type of growth and late blooming were also observed on the tetraploids of *Nicotiana* in our experiment.

After studying the change of plant height in tomatoes, KOSTOFF and KENDALL (16) emphasized that the growth type of tetraploid and diploid were quite different. One of the authors (31), however, found in the same plant the following relation in his investigation of dry matter. The difference of growth is only a matter of time and otherwise both tetraploid and diploid are growing according to the same type. Of course, it will be not quite reasonable to consider the plant growth merely on the basis of plant height, so that the question will be discussed in future.

The slow rate of development above indicated has been assumed to be due to a decrease rate of cell division. An analysis of polyploid moss has furnished definite evidence to show that the autopolyploidy has a remarkable effect on the rapidity of cell division. WETTSTEIN (45) remarked that an altered rate of cell division is characteristic of the *gigas* type among the moss. The similar result has been found thereafter by DORRIES-RÜGER (7). Even in the higher plant, SAX and SAX (36) observed concerning the division of pollen mother cells in *Tradescantia* that the first metaphase occurred in the morning in diploid and in afternoon in tetraploid, and the same fact was seen by the authors in *Nicotiana*.

Dwarf and deformed plants appeared abundantly in the course of investigation on the autotetraploid *Nicotiana* species. Quite similar observation has been made by OKA (29) in his study on the progeny of tetraploid tomatoes and the plants were proved to be heteroploids cytologically. So malformations in *Nicotiana* might be supposed equally due to heteroploidy.

WARMKE and BLAKESLEE (44) reported that the tetraploid in *Nicotiana Sanderae* was more vigorous than the diploid. Under good conditions, for instance in field, the tetraploids of other *Nicotiana* species, i.e. *N. rustica* and *N. Tabacum*, were also vigorous and it was especially recognized in the thickness of leaves. Speaking generally, a

definite conclusion will be possible in the case, in which the tetraploid plants of *Nicotiana* are grown under best condition in future.

The tetraploids of *Nicotiana Tabacum* suffer easily from wilting under the sunshine in summer day. It proves their heavy requirement for water and the tetraploids would better grow when they are cultured on the soil rich in water.

According to KOSTOFF and AXAMITNAYA (17), the chromosome doubling in tomatoes leads to decrease in the amount of dry matter about one or two per cent and increase in the water content. The results have been confirmed quite recently by OKA (31). On the contrary, FABERGE (8) reported another case in the examination of tomatoes, in which no evidence for it was found. The question was, however, clearly solved by HESSE's investigation (15), in which tetraploids of *Petunia* were cultivated under different soil condition of water. The wet soil caused the change of percentage in dry matter and water content. The slight increase of dry matter in tetraploid obtained in this experiment is not explained by the above mentioned results.

KOSTOFF and AXAMITNAYA (17) made a chemical analysis of tetraploid tomato and *Petunia*, and compared the results with those of the corresponding diploids. In *Petunia*, the principal chemical compounds of tetraploid and diploid were, generally speaking, almost similar to each other. In tomato the results were quite different. The tetraploids were found to contain more nitrogen and protein and less cellulose and ashes than the diploids. OKA (31) examined similarly diploid and tetraploid tomatoes for organic substances and observed the increase of total sugar, total organic acid and vitamin C in the tetraploids. With regard to vitamin C, the same results were reported by several investigators in tomatoes, apples and others (11, 23, 35). Comparative analysis of chemical substances contained in diploid and tetraploid *Nicotiana* plants, the results of which is given in this paper, proved the increase of total nitrogen, nicotine, total acid, ether extract and total resin and decrease of total and reducing sugar. Such increase of chemical substances in tetraploids may partly due to the more intensive assimilation, because HEILBRONN (14) found that the production of starch was greater in tetraploids of *Polypodium aureum*. The decrease of total sugar, which is unexpected from the fact above mentioned, may be thought to be due to the fact that the metabolism of plant was changed by the chromosome doubling as indicated by WETTSTEIN (45) in moss, and sugar was inverted to organic acid in the cell.

Among the ashes, the content of calcium surpassed others far in the tetraploids. An interesting result has been recently reported by ROHWEDER (32, 33, 34) in the study of tetraploids in *Dianthus*. Diploids

will not be able to grow on the soil rich in calcium and nitrogen, but when the plant doubles its chromosome set, it can be safely cultured in such a soil. Further, the fact was found, that there are many tetraploid plants in the district rich in calcium of Northern Germany. The discussion of the results concerning other chemical substances will be given after further experiments.

At all events, tetraploids are not simply distinguished by the chromosome doubling, but also they have new physiological characters and new biological system, so that the further study of physiology in tetraploids might be of utmost important in future.

Summary

(1) Under the conditions of pot and field culture, the physiological characters, such as germinative power of seed, growth rate of plant, flowering and fruiting of autotetraploids of *Nicotiana rustica* and *N. Tabacum* produced by the colchicine treatment were studied experimentally.

(2) Seeds from the tetraploid were for a great deal wrinkled and abortive, so that their germination was not only poor, but slow and irregular in spite of their large size, and besides malformations appeared abundantly at the seedling stage.

(3) The retardation of growth is one of the remarkable phenomena in tetraploids, which became more and more distinct in the progress of time. The thickness of their leaves, however, increased extraordinarily, as compared to that of diploids. Late flowering and fruiting were also very common.

(4) The tetraploids in *Nicotiana Tabacum* were apt to wilt easily in summer day, which might be due to greater requirement of water for the growth than the diploids.

(5) There occurred a slight increase of dry matter in tetraploids. The doubtling of chromosome sets brought out more nicotine, organic acid, nitrogen, ether extract, resin, soluble ash, calcium, potassium and magnesium, while, on the contrary, less sugar, either reducing or non-reducing, especially the former, sulphuric acid and phosphorus were recognized.

Literature cited

(1) BECKER, G. 1931. Experimentelle Analyse der Genom- und Plasmonwirkung bei Moosen. III. Osmotischer Wert heteroploider Pflanzen. Zeitschr. f. ind. Abst. u. Vererb.-Lehre. **60**: 17.

(2) BLAKESLEE, A. F. and AVERY, A. G. 1937. Method of inducing doubling chromosomes in plants. Jour. Hered. **28**: 393.

(3) ———. 1938. Size of seed and other criteria of polyploids. Science **88**: 440.

(4) BLAKESLEE, A. F., WARMK, H. E. and AVERY, A. G. 1939. Characteristics of induced polyploids in different species of angiosperms. Genetics. **24**: 66.

(5) COLLINS, J. L. and MANN, M. C. 1923. Interspecific hybrids in *Crepis*. II. A. preliminary report on the results of hybridizing *Crepis setosa* with *C. capillaris* and with *C. biennis*. Genetics. **8**: 212.

(6) DARKIS, F. R., DIXON, L. F., WOLF, A. F. and GROSS, P.M. 1937. Chemical composition of flue-cured tobaccos produced on limed and nonlimed soils under varying weather conditions. Industrial and Engineering Chemistry. **29**: 1030.

(7) DORRIES-RÜGER, K. 1929. Experimentelle Analyse der Genom- und Plasmonwirkung bei Moosen. Zeitschr. f. ind Abst.- und Vererb.-Lehre. **52**: 390.

(8) FABERGE, A. E. 1936a. The physiological consequences of polyploidy. I. Growth and size in the tomato. Journ. Genet. **33**: 365.

(9) ———. 1936b. The physiological consequences of polyploidy. II. The effect of polyploidy on the variability in the tomato. Journ. Genet. **33**: 383.

(10) GATES, R. R. 1913. A contribution to a knowledge of the mutating Oenotheras. Trans. Linn. Soc. London, 2nd. Ser. Botany, **8**: 1.

(11) GÖTHLIN, G. F. 1935. Biologiska bestämnigar av halten av antiskörbjuggs-vitamin (vitamin C, askorbinsyra) hos 12 av de viktigaste i Sverige odlade äpplesorterna (with a summary in English). Kungl. landtbruks-Akademiens Handlingar och Tidskrift. **7**: 884.

(12) HAGERUP, O. 1932. Über Polyploidie in Beziehung zu Klima, Ökologie und Phylogenie. Hereditas **16**: 19.

(13) ———. 1938. Studies on the significance of polyploidy. II. *Orchis*. Hereditas **24**: 258.

(14) HEILBRONN, A. 1928. Über experimentell erzeugte Tetraploidie bei Farnen. Verhandl. des V internal. Kongr. für Vererbungswiss. Berlin. 1927. Zeitschr. f. ind. Abst.- u Vereb.-Lehre. Supplemented II. 830.

(15) HESSE, R. 1938. Vergleichende Untersuchungen an diploiden und tetraploiden Petunien. Zeitschr. f. ind. Abst. u. Vererb.-Lehre. **75**: 1.

(16) KOSTOFF, D. and KENDALL, J. 1934. Studies on polyploid plants. III Cytogenetics of tetraploid tomato. Gartenbauwissenschaft. **9**: 20.

(17) ———. and AXAMITNAYA, I. 1935. Studies on polyploid plants IX. Chemical analysis of diploid and their tetraploid plants. C.R. Acad. Sci. U.R.S.S. **2**: 293.

(18) KOSTOFF, D. 1938 a. Irregular mitosis and polyploidy induced by colchicine and acenaphthene. C. R. Acad. Sci. U.R.S.S. **19**: 189.

(19) ———. 1938 b. Polyploid plants produced by colchicine and acenaphthene. Current Science. **7**: 108.

(20) ———. 1938 c. Directed heritable variations conditioned by euploid chromosome alterations. Journ. Genet. **36**: 447.

(21) KOSTOFF, D. 1938 d. Studies on polyploid plants. XXI. Cytogenetic behaviour of the allopolyploid hybrids *N. glauca* × *N. Langsdorffii* and their evolutionary significance. Journ. Genet. **37**: 129.

(22) LEVAN, A. 1936. Zytologische Studien an *Allium Schoenoprasum*. Hereditas **22**: 1.

(23) MAC HENRY, T. W. and GRAHAM, M. 1935. Observations on the estimation of ascorbic acid by titration. Biochem. Journ. **29**: 2013.

(24) MANTON, I. 1935. The cytological history of watercress (*Nasturtium officinale* R.). Zeischr. f. ind. Abst.- u. Vererb.-Lehre. **69**: 132.

(25) MÜNTZING, A. The evolutionary significance of autopolyploidy. Hereditas. **21**: 263.

(26) NAVASHIN, M. 1929. Studies on polyploidy. I. Cytological investigations on triploidy in *Crepis*. Univ. Calif. Publ. Agri. Sci. **2**: 377.

(27) NILSSON, N. H. 1920. Zuwachsgeschwindigkeit der Pollenschläuche und gestörte Mendelzahlen bei *Oenothera Lamarckiana*. Hereditas. **1**: 41.

(28) NOGUTI, Y. OKUMA, K. and OKA, H. 1939. Studies on the polyploidy in *Nicotiana* induced by the treatment with colchicine. I. General observations on the autotetraploid of *N. rustica* and *N. Tabacum*. Jap. Journ. Bot. **10**: 309.

(29) OKA, H. 1936. The progeny of tetraloid tomatoes (Preliminary report). (In Japanese with English résumé.). Jap. Jour. Genet. **12**: 89.

(30) ———. 1938. Studies on the polyploidy in tomato. I. The fertility of tetraploid plants. (In Japanese). Journ. Hort. Ass. Japan. **9**: 231.

(31) ———. 1940. Studies on the polyploidy in tomato. II. Physiological characters of tetraploid plants. (In Japanese). Jour. Hort. Ass. Japan. (Under the press).

(32) ROHWEDER, H. 1936. Die Bedeutung der Polyploidie für die Anpassung der Angiospermen an die Kalkgebiete Schleswig-Holstein Beivh. Bot. Centralbl. **54**: 507.

(33) ———. 1937. Beziehungen zwischen Chromosomengrösse und Vitalität innerhalb der Gattung *Dianthus*. Planta. **27**: 478.

(34) ———. 1937. Versuch zur Erfassung der mengenmässigen Bedeckung des Darss und Zingst mit polyploiden. Planta. **27**: 500.

(35) SANSOME, F. W. and ZILVA, S. S. 1936. Polyploidy and Vitamin C. Biochemical Journ. **30**: 54.

(36) SAX, K. and SAX, H. J. 1937. Stomata size and distribution in diploid and polypoid plants. Journ. Arnold Arb. **18**: 164.

(37) SHMUCK, A. 1938. On the chemical nature of substances inducing polyploidy in plants. C.R. Acad. Sci. U.R.S.S. **19**: 181.

(38) SMITH, H. 1939. The induction of polyploidy in *Nicotana* species and species hybrids by treatment with colchicine. Journ. Hered. **30**: 291.

(39) ———. 1939. Induction of polyploidy in *Nicotiana* species and species hybrid by treatment with colchicine. Genetics **24**: 85.

(40) STOMPS, T. J. 1925. Sur *Oenothera biennis* mut. *gigas*. La Cellule. **36**: 235.

(41) TISCHLER, G. 1935. Die Bedeutung der Polyploidie für Verbreitung der Angiospermen. Bot. Jahrbücher. **67**: 1.

(42) DE VRIES, H. 1906. Arten und Varietäten und ihre Entstehung durch Mutation. Berlin.

(43) WARMKE, H. E. and BLAKESLEE, A. F. 1938. Induction of tetraploidy in *Nicotiana Sanderae* and in the sterile hybrid *N. Tabacum* × *N. glutinosa*

by colchicine treatment. (Abst. 1938 Met. Gen. Soc. Amer.). Genetics **24**: 109.

(44) WARMKE, H. E. 1939. Induction of simple and multiple polyploidy in *Nicotiana* by colchicine treatment. Journ. Hered. **30**: 419.

(45) WETTSTEIN, F. 1924. Morphologie und Physiologie des Formwechsels der Moose auf genetischer Grundlage. I. Zeitschr. f. ind. Abst.- u. Vererb- **33**: 1.

(46) ZHURBIN, A. I. 1938. Comparative study of cell sizes of auto- and allo-polyploids. Compt. Rend (Doklady). Acad. Sci. U.R.S.S. **18**: 457.

Studies on chromosome structure
I. Spiral structure of chromosomes in *Trillium Smallii* MAXIM.

By Jiro IWATA

With plates V-VI

(Received February 1, 1940)

To obtain some knowledge of the chromosome structure in the sporogenesis of *Trillium Smallii* MAXIM. the present investigation was undertaken. As material the plants collected in the suburbs of Kyoto and those collected in Hokkaido were used.

Observations were made exclusively with the acetocarmine smear method.

Observation

In the present investigation, the observation was limited to the period from early diakinesis to the end of the pollen tetrad formation.

Diakinesis. The chromatic threads which are slender and long in the early prophase of the heterotype division become, passing through the diplotene stage, gradually contracted in length, and form the typical diakinesis chromosomes. Generally, the chromosomes at the early diakinesis are reticulate in appearance and the spiral structure of the chromosomes is not distinct. In one case, however, as shown in Fig. 1 two chromonemata which appear to be in a relational coil (KUWADA and NAKAMURA 1938), thus showing the tertiary split, could be observed more or less clearly in a certain portion of the chromatid indicated by an arrow. In none of the chromosomes shown in Fig. 1 are clear double-coiled spirals perceptible. The chromosomes in the early diakinesis seem to be of the structure of the single-coiled spiral. With the advance in stage further contraction of the chromosomes takes place, so that the chromosomes become markedly shortened. At the mid- or late diakinesis the condensation reaches its maximum. The chromosomes of the typical diakinesis are shown in Fig. 2. As shown in this figure, the chromosomes in this stage are short in length and usually present a reticulate appearance,

which is so complex that any clear idea of the structure is hardly obtainable. In some cases, however, as has been observed by KUWADA and NAKAMURA (1938), spirals of a higher order become recognizable in places in the corrugated chromonemata, when a slight pressure is given on the cover glass after fixation with acetocarmine. This spiral of higher order seems to correspond to the major spiral formed in the metaphase. Thus in *Trillium*, the double-coiled or spiral-within-spiral structure is assumed to occur in the diakinesis stage as has been assumed by DARLINGTON (1935) and KUWADA and NAKAMURA (1935, 1938). The tertiary split observed in the earlier stage is concealed in this late diakinesis. When the nuclear membrane disappears, the chromosomes become arranged on a plane to form the equatorial plate.

Metaphase I. In *Trillium Smallii* MAXIM. ten gemini are countable in the equatorial plate. The configurations of these metaphasic bivalent chromosomes vary according to the number of chiasmata formed between two homologues. Practically telomitic chromosomes present the shape of a ring, a V or some other modified forms in polar view. The remaining atelomitic gemini assume the shape of 8, or X, or more complicated shapes due to the twisting of the gemini around themselves in varying degrees. Fig. 3 shows these chromosomes in polar view. The major spirals are observable very clearly in these chromosomes. In Fig. 4 the corrugations of the chromonemata within the major spiral can be seen more or less clearly in places. However, in the metaphase too, the chromosomes often show a reticulate appearance (Fig. 5), perhaps due to the separation of the chromonemata from each other in the chromosomes. While in Fig. 3, the tetrad nature of the gemini is clearly observable in places, the chromatid spirals running side-by-side, it is not clear in Figs. 4 and 6. In the chromosomes indicated by arrows in these latter figures each univalent seems to contain a single spiral (MATSUURA, 1937). The matrix in which the major spiral is embedded is more or less distinct in the lower chromosome in Fig. 6. The double-coiled structure of the chromosomes is demonstrable with a certain distinctness in the pollen mother cells treated with a solution of KCN (OURA, 1936) or NH_4Cl (SHINKE, 1937) before staining with acetocarmine (Fig. 7, especially the chromosome indicated by an arrow). The pitch of the major spiral is generally so short in the metaphase that the spirals appear as piles of discontinuous bars (Fig. 7), but when a pressure is given on the cover glass, it often becomes clear that they are continuous threads coiled in spiral and not piles of discontinuous bars (Fig. 6).

Anaphase I. In the early anaphase, most of the atelomitic chromosomes take the form of double V's, and the telomitic ones that of single V's, all these having their apices pointing to the poles (MATSUURA, 1935).

In Fig. 8 the double-coiled structure is seen more or less clearly in the chromosome indicated by an arrow. Fig. 9 is a reproduction from a preparation prepared by giving a slight pressure on the cover glass after the staining. In the last turn of the spiral in the chromosome indicated by an arrow in this figure the tertiary split is observable more or less clearly (HUSKINS and SMITH, 1935). The number of spiral turns in the anaphase chromosomes is counted to be from 6 to 10 in the telomitic chromosomes and from 8 to 13 in the atelomitic ones.

Telophase I. Soon after the chromosomes reach the poles, the loosening, to a certain extent, of the chromonemata from each other begins to take place in each chromosome, and as a consequence the chromosomes in the telophase come gradually again to show a more or less reticulate appearance (Fig. 10). The loosening of the chromonemata becomes marked as the stage advances, and the chromosomes present the same reticulate appearance as the diakinesis chromosomes. In most cases, however, the major spirals are found more or less tightly coiled in marked contrast to the case of *Tradescantia* (KATO, 1935), and the double-coiled structure is thus perceivable still in these chromosomes, although the structure is not so manifest as in the case of metaphase and anaphase. The chromosome sheath which LEE (1921, 1925) has assumed to be of natural occurrence was sometimes observed in this stage in the preparations with the pretreatment with KCN-solution (Fig. 11). Meanwhile, the nuclear membrane which surrounds the telophasic chromosomes becomes noticeable. The nucleus formed is at first irregular in outline with the protuberances formed of the protruded parts of the chromosomes, but soon it becomes smooth in outline and is semispherical in shape. The chromosomes are rather separate from one another, being released somewhat from their compact association in the early telophase. As the stage advances, the nucleus situated at first near the surface of the cell moves inward, and it becomes larger and larger. Then the semispherical shape of the nucleus is transformed into an ovoid. No drawing out of the major spirals is observable in the telophase.

Interkinesis. Usually the chromosomes in the interkinesis are somewhat reticulate in appearance as in the telophase. The chromosomes in this stage are nearly as short as in the metaphase, and no marked drawing out of the major spiral is perceptible. A nucleus in the interkinesis is shown in Fig. 12, in which the major spiral is observable in places, although it is not so clear as in the case of the metaphase owing to the loosening of the association of the spiral chromonemata. Similar cases of the chromosomes being in the condensed state in the interkinesis have been reported by TUAN (1931) in an abnormal sporogenesis in *Gasteria*, by SHINKE (1934) in *Sagittaria*, by MATSUURA (1937) in

certain species of *Trillium* and by WILSON (1912) in some animals. In the case of *Trillium Smallii* MAXIM., however, there is a tendency of the chromonemata in the chromatid to loosen themselves from their association in the interkinesis, which tendency is less marked in *Sagittaria* (SHINKE, 1934) and *Fritillaria*.(1) With KCN or NH_4Cl, the chromosomes in the interkinesis can be unravelled easily. The nucleus pretreated with a KCN-solution is shown in Fig. 13. In this nucleus the unravelled chromosomes present the reticulate appearance. The nuclei pretreated with KCN-solution resemble in structure those of *Lilium* with chromonemata drawn out from their major spirals, or those of *Tradescantia* where the territory of each chromosome is entirely indistinguishable. In the interkinesis the polarized orientation of the chromosomes can be seen more or less clearly. In the plants from Hokkaido, transplanted in pots, such an unravelling of the chromosomes as found in the case of the KCN-pretreatment was often observed without any artificial treatment. One of these cases is shown in Fig. 14. Here the major spirals are almost completely drawn out, so that the nucleus presents a close resemblance to the nucleus of the same stage in certain species of *Lilium* in which minor spirals remain uncoiled. In other cases the uncoiling takes place more extensively as shown in Fig. 15. In this nucleus, not only the major spirals but also the minor spirals are extensively uncoiled. In appearance, this nucleus quite resembles the interkinesis nucleus of *Tradescantia reflexa* (KATO, 1935). Usually there are found in these nuclei two or three small, but highly condensed chromatin masses. These chromatin masses which appear disposed irregularly in the nucleus probably represent chromocenters or heteropycnotic parts of chromosomes surviving without being unravelled. The micronuclei formed with chromosome fragments are often found at this stage. Another case of the interkinesis with chromosomes of different behaviour was also observed. In this case, the chromosomes undergo no unravelling process, the whole nucleus appearing as in the case of *Sagittaria*. In the *Trillium* studied, therefore, there exist three types of interkinesis nucleus, two extreme types with chromosomes, in one case undergoing an extensive unravelling and in the other case with none at all, and the third type which is intermediate between these two extremities in respect to the chromosome unravelling.

In the so-called "restitution nuclei" which were found in the course of the present investigation, the chromosomes were found unravelled to a considerable extent. One of these nuclei is shown in Fig. 16. In this nucleus no trace of major spirals is seen, and moreover, even the minor spirals have been almost completely unravelled. The nuclei are of varying

(1) To be published later.

shapes, dumb-bell or ovoidal, according to the stage at which the "restitution" takes place, but in any case they appear to be of the same structure as the resting nucleus in somatic cells with corrugated chromatin threads. The heteropycnotic chromosomal masses are also found in the restitution nucleus. The number, shape and size of these masses are not always constant; in most cases they are more or less spherical in shape.

Homotype Prophase. When the chromosomes enter into the prophase of the homotype division the spirals reappear. The reticulate appearance in the interphase becomes gradually replaced by the spiral structure. In the chromosomes shown in Fig. 17, taken from a preparation in which a slight pressure was given on the cover glass after staining with acetocarmine, the tertiary split is found to exist in places. Fig. 18 shows a late prophase of the homotype division. As shown in this figure, the chromosomes are short in length as in the heterotype anaphase. In these chromosomes the double-coiled structure is perceptible in places, though it is not so manifest as in the heterotype metaphase. When the nuclear membrane disappears the polarized orientation of the chromosomes becomes lost.

Metaphase II. In the homotype metaphase all the chromosomes are arranged to form the equatorial plate with the points of spindle fibre attachments pointing to the center of the plate. One of the cases where homotype metaphase was prepared with the pretreatment with KCN-solution is shown in Fig. 19. In this stage, the major spirals are as tightly and as regularly coiled as in the case of the heterotype metaphase, and thus, the chromosomes very much resemble those of the heterotype metaphase, so far as the internal structure is concerned. In Fig. 19 the minor spirals or the chromonema corrugations are perceptible. In *Trillium Smallii* the chromosomes are of the double-coiled structure in both hetero- and homotype metaphases.

Anaphase II and Telophase II. Fig. 20, *a* and *b* show the middle anaphase chromosomes. As seen in these chromosomes, the major spirals are tightly coiled as in the case of the heterotype anaphase. In Fig. 20, *a*, the double-coiled structure is manifested more or less clearly, and in *b* the tertiary split is clear. In the chromosomes in early telophase a slight change in the matrix substance is recognizable, it being here perceptible that the loosening of the tightly coiled spirals is in process. Soon after the chromosomes reach the pole, the nuclear membrane becomes noticeable. The change in the chromosome matrix goes further as the stage advances, and as a consequence the chromosomes are rendered diffuse or loosened. In the later telophase these chromosomes appear to be more or less reticulate (Fig. 21). The loosening is conspicuous first at the distal end of the chromosome (KUWADA and NAKAMURA, 1938),

and finally the whole nucleus is rendered uniformely of diffuse structure excepting that some chromocenters are visible (Fig. 22). In some cases a structure reminding us of the karyomeres or the chromosome vesicles was observed in the tetrad nuclei.

Consideration

Recently, in many plants it has been observed that the chromosomes in the heterotype metaphase are of the double-coiled structure. In the homotype metaphase, however, it has been shown that in this second division the chromosome structure is not always the same in these plants. In *Tradescantia*, the chromosomes in metaphase II are always of the single-coiled structure (KUWADA and NAKAMURA, 1933; KATO, 1935), and in *Sagittaria, Fritillaria* and *Trillium* they are of the double-coiled spirals as in the heterotype metaphase (SHINKE, 1934; DARLINGTON, 1935; NAKAMURA, 1937 and MATSUURA, 1937). In certain species of *Lilium* (KATO and IWATA, 1935), the mode of coiling in the metaphase II is variable. In some cases the chromosomes are of the double-coiled structure, while in others they are of the single-coiled one. KUWADA (1935) interpretes this variation in the mode of coiling of the chromonemata as due to the behaviour of the matrix substance. In the interkinesis the behaviour of the chromonemata may also be different in different plants. In *Tradescantia*, the major spirals in the heterotype metaphase are completely drawn out in the interkinesis (KUWADA and NAKAMURA, 1935; KATO, 1935), and even the minor spirals undergo a certain deformation. In *Lilium*, the major spirals are drawn out, but the minor remain, roughly speaking, intact, so that only the spirals of minor coils are visible (KATO and IWATA, 1935). In *Sagittaria*, the chromosomes in interkinesis show no marked change in coiling of the spirals (SHINKE, 1934). They pass the interkinesis without showing any fundamental change in their internal structure from the heterotype metaphase to the homotype metaphase. In *Trillium* the behaviour of the chromonemata in the interkinesis is as a whole like that of those in *Sagittaria*, but in this plant the spirals (major) are less compact than in the case of *Sagittaria*. In *Trillium*, therefore the behaviour of the chromonemata in the interkinesis may be regarded as intermediate between *Sagittaria* and *Lilium*. It was described above how in the plants sent from Hokkaido there were found other types of interkinesis which correspond to the case of *Tradescantia*, *Lilium* and *Sagittaria* respectively. The occurrence of these different types seems to be connected with certain abnormal environmental conditions to which the plants were subjected. This view is supported by the fact that in the same material the formation of the restitution nuclei

was observed. An abnormal case of interkinesis has been reported by TUAN (1931) in the sporogenesis of *Gasteria*.

HUSKINS and SMITH (1935) have observed the tertiary split in the early metaphase I, anaphase I and telophase II in *Trillium*. In the present investigation this tertiary split was observed in different stages from early diakinesis to the end of the tetrad formation, except in the metaphase of both heterotype and homotype divisions. In these excepted stages the split is only visible when the material is pretreated with a KCN-solution. Thus, we may conclude that the spirals are so tightly coiled in the first and second metaphases that the tertiary split which really exists is concealed entirely in these chromosomes.

Summary

The present paper deals with the internal structure of the chromosomes in the pollen mother cells of *Trillium Smallii* MAXIM. The main results obtained are summarized as follows.

1) In the early diakinesis the major spirals are not clearly manifest.
2) The double-coiled structure of the chromosomes is first observable at the late diakinesis.
3) In the metaphase of the heterotype division ten gemini are observed.
4) The chromosomes in the heterotype metaphase are of the double-coiled structure.
5) The tertiary split is observable in different stages from the early diakinesis to the end of the tetrad formation except both heterotype and homotype metaphases.
6) In telophase, the chromosome sheath or a hyaline area surrounding the chromatic spirals was observed in some cases.
7) In the interkinesis the chromonema spirals are made loose to a certain extent, so that the whole structure often appears to be reticulate, but double-coiled structure is maintained more or less distinctly.
8) Three different cases were observed in the structure of the interkinesis nuclei, namely: one resembling that of *Tradescantia*, the other that of *Lilium*, and the third that of *Sagittaria*. Restitution nuclei were also observed. The occurrence of the latter phenomenon suggests that the occurrence of different cases of the structure of the interkinesis nucleus is due to a certain abnormal condition.
9) The chromosomes in the homotype metaphase and anaphase are also of the double-coiled structure in this plant.

In conclusion, I wish to express my cordial thanks to Prof. Y. KUWADA for his suggestions and criticisms throughout the course of the investigation.

Literature cited

DARLINGTON, C. D. 1935. The internal mechanics of the chromosomes I. The nuclear cycle in Fritillaria. Proc. Roy. Soc. London. S.B. **118**.

———. 1935. The internal mechanics of the chromosomes III. Relational coiling and crossing-over in *Fritillaria*. Ibid.

HUSKINS, C. L. and SMITH, S. 1935. Meiotic chromosome structure in *Trillium erectum* L. Ann. Bot. **49**.

KATO, K. 1935. Chromosome behaviour in the interkinesis. I. Observation of pollen mother cells in *Tradescantia reflexa*. Mem. Coll. Sci. Kyoto Imp. Univ. S.B. **10**.

——— and J. IWATA. 1935. Spiral structure of chromosomes in *Lilium*. Ibid.

KUWADA, Y. 1933. Behaviour of chromonemata in mitosis. V. A probable method of formation of the double-coiled chromonema spirals and the origin of coiling of the chromonemata into spirals. Cytologia **6**.

——— and T. NAKAMURA. 1933. Behaviour of chromonemata in mitosis. I. Observation of pollen mother cells in *Tradescantia reffexa*. Mem. Coll. Sci. Kyoto Imp. Univ. S.B. **9**.

——— 1935. Behaviour of chromonemata in mitosis. VI. Metaphasic and anaphasic longitudinal split of chromosomes in the homotype division in pollen mother cells in *Tradescantia reflexa*. Cytologia **6**.

——— 1938. Behaviour of chromonemata in mitosis. VIII. The major spirals in diakinesis. Cytologia **9**.

LEE, A. B. 1921. The structure of certain chromosomes and the mechanism of their division. Quart. Jour. Microsc. Sci. **65**.

———. 1925. The chromosomes of *Paris quadrifolia* and the mechanism of their division. Ibid. **69**.

MATSUURA, H. 1935. Chromosome studies on *Trillium kamtschaticum* PALL. II. The direction of coiling of the chromonemata within the first meiotic chromosome in the PMC. Fac. Sci. Hokkaido Imp. Univ. S.B. **3**.

——— 1937. Chromosome studies on *Trillium kamtschaticum* PALL. V. Abnormal meiotic divisions due to the high temperature. Cytologia FUJII Jub. Vol. Pars I.

NAKAMURA, T. 1937. Double refraction of the chromosomes in paraffin sections. Ibid.

OURA, G. 1936. A new method of unravelling the chromonema spirals. Zeitschr. f. wiss. Mikr. **53**.

SHINKE, N. 1934. Spiral structure of chromosomes in meiosis in *Sagittaria Aginashi*. Mem. Coll. Sci. Kyoto Imp. Univ. **9**.

———. 1937. An experimental study on the structure of living nuclei in the resting stage. Cytologia FUJII Jub. Vol. Pars. I.

TUAN, H. C. 1931. Unusual aspects of meiotic and postmeiotic chromosomes of *Gasteria*. Bot. Gaz. **92**.

WILSON, E. B. 1912. Studies on chromosome. VIII. Observations on the maturation phenomena in certain Hemiptera and other forms, with considerations on synapsis and reduction. Jour. Exper. Zool. **13**.

Explanation of plates V–VI

All the figures are photomicrographs taken from acetocarmine preparations using ZEISS apochrom. imm. 2mm. and comp. oc. 15×.

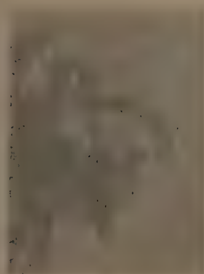
Plate V

Fig. 1. Chromosomes in early diakinesis. Tertiary split is shown in the portion indicated by an arrow.
Fig. 2. Chromosomes of reticulate structure in late diakinesis.
Fig. 3. Polar view of metaphase I showing the major spirals.
Fig. 4. Metaphase I showing a chromosome with visible minor spirals.
Fig. 5. The same. Showing chromosomes somewhat reticulate in structure.
Fig. 6. The same. Showing apparently single-stranded spirals.
Fig. 7. The same pretreated with KCN, showing the double-coiled structure of chromosomes.
Fig. 8. Anaphase I. Showing the same double-coiled structure.
Fig. 9. The same. Showing the tertiary split visible at the distal end.
Fig. 10. Telophase I. Showing the reticulate structure.
Fig. 11. The same, pretreated with KCN. Showing the chromosome sheath.
Fig. 12. Interkinesis.
Fig. 13. The same, pretreated with KCN. Showing the reticulate structure.

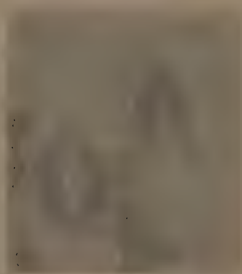
Plate VI

Fig. 14. A nucleus in interkinesis with major spirals unravelled (*Lilium* type).
Fig. 15. The same with not only major spirals but also minor spirals which are extensively uncoiled (*Tradescantia* type).
Fig. 16. Restitution nucleus.
Fig. 17. Prophase II.
Fig. 18. The same in a later stage.
Fig. 19. Metaphase II showing the double-coiled structure. Pretreated with KCN.
Fig. 20. a. Anaphase II. showing the double-coiled structure.
b. The same. Showing the tertiary split.
Fig. 21. Telophase II. Showing chromosome unravelling.
Fig. 22. Nucleus in telophase II.

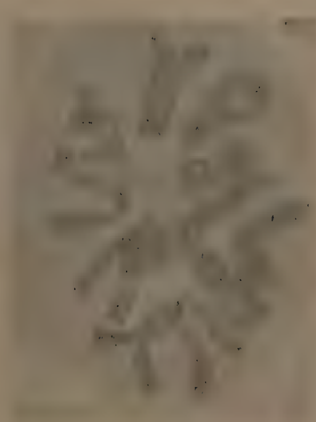
PLATE V

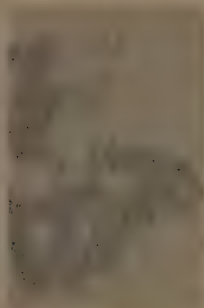


1

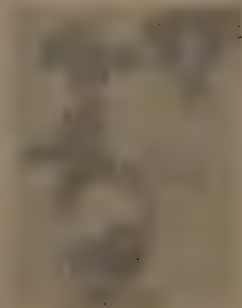


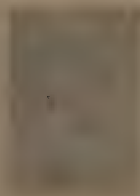
2

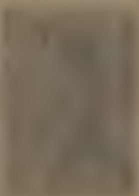


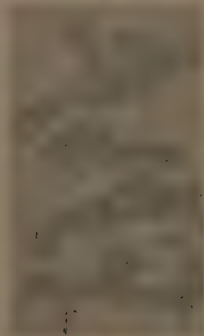


4









6







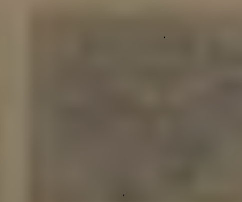
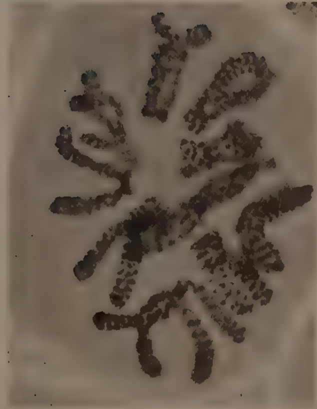


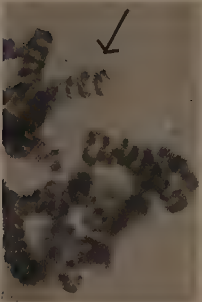


PLATE V


1


2


3

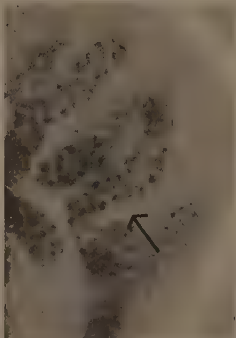

4


5


8

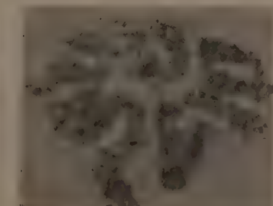

9


6


7


11


10


12


13

Studies on chromosome structure
II. The attachment chromomeres in the meiotic chromosomes

By Jiro IWATA

With pl. VII and 4 text-figures

(Received February 1, 1940)

Recently, the importance of the morphology of attachment chromomeres in connection with the structure and behaviour of chromosomes in mitosis has become increasingly recognized by many cytologists. METZNER (1891) was the first who paid special attention to these bodies, and proposed a term "Leitkörperchen" for them. The bodies have been called by other terms also, such as "polar granules" and "granule proximale," and in recent years the terms "attachment chromomere," "kinetochore" and "centromere" are of general use. SCHRADER (1935, 1936) has stated that the mitotic movement of chromosomes is closely associated with the activities of the attachment chromomere, and MATSUURA (1937) that there is a connection between the behaviour of the kinetochore and the mode of chromatid assortment in the I-anaphase. It is certain that the complete division of the chromosome is connected with the division of the attachment chromomere, but the morphology of the body in relation to the chromonema still demands a further investigation. To obtain some knowledges which may answer this demand, the present investigation was undertaken.

Before going further the writer wishes to express his sincere gratitude to Prof. Y. KUWADA for his suggestions and criticisms throughout the course of the investigation.

Material and method

As material, pollen mother cells of *Trillium Smallii* MAXIM. and those of *Lilium tigrinum* GAWL. were used. They were fixed with FLEMMING's stronger solution without acetic acid and diluted one-fourth with distilled water, or with the S_1 solution of HUSKINS and SMITH (1935). In the case of *Lilium tigrinum* the anthers were pretreated

with 1/100N solution of HCl for about 2–3 hours before fixation with the modification of FLEMMING's stronger solution named above.

The material fixed with these solutions was embedded in paraffin as usual, and sections were cut 14 micra thick.

For staining HEIDENHAIN's iron alum haematoxylin and FEULGEN's nucleal staining method were used.

Observation

Observations were made from the heterotype metaphase to the end of the homotype division in meiosis.

Metaphase I. In the heterotype metaphase chromosomes, fixed with the modification of FLEMMING's stronger solution, small granules stained deeply are observed with a certain distinctness in the region of the spindle fibre attachment. Fig. 1 is a photomicrograph of a heterotype metaphase in *Trillium.* The number of these granules varies from two to four in a bivalent chromosome, the size of the granules being larger in the case of the smaller number than in that of the larger. The granules are spherical or ellipsoidal in shape (Text-fig. 1). TRANKOWSKY (1930) has observed such ellipsoidal granules in somatic chromosomes in *Vellevallia* and *Crepis.* In Text-fig. 2 three of these granules are shown, of which two are spherical and one other is larger than these two and nearly of a dumb-bell shape. The dumb-bell shaped granule seems to represent two adjacent granules fused into one or appearing so as the result of an inadequate fixation or insufficient differentiation in staining. In *Lilium tigrinum,* trivalent and univalent chromosomes are also found besides the bivalents. Text-fig. 3 a-c show the trivalent, bivalent and univalent chromosomes respectively in metaphase. The number of granules is six in the trivalent, four in the bivalent, and two in the univalent. It is indeed difficult to determine in every case whether these granules exactly correspond to the attachment point of the spindle fibre, but in some restricted cases this was possible. In the case where the fixation was made with S_1 solution, the "traction cone" (FUJII and YASUI, 1936) was observed, at the apex of which two of the granules were found. Fig. 2 is a photomicrograph of a metaphase in side view taken from the preparation prepared from the material fixed with the S_1 fixative. In the region of the spindle fibre insertion an antenna-like projection of the traction cone is visible. A bivalent chromosome from another metaphase is shown in Text-fig. 4. In this case, the traction cone is found on both sides of the chromosome. The deeply stained granules found at the apex of the cone are two in number. They are usually ellipsoidal in shape, and usually disposed anglewise with each

other. In Fig. 3 the traction cones are not visible, but only the granules which appear to be free from the chromosomes as shown in Fig. 15 of NAWASCHIN. In this figure, two distinct granules are found close to each other showing that the dumb-bell shape found in some granules is due to the fusion of two granules in contact. When the traction cone is not visible, the two granules are found lying along the long axis of the spindle, as shown in this figure. In this figure it is also clearly shown that the spindle fibres are attached to these granules.

Anaphase I and telophase I. Fig. 4 and Text-fig. 5 are the chromosomes in anaphase of *Trillium* fixed with the modification of FLEMMING's stronger solution. The granules are found at the points of the spindle fibre insertion. In Text-fig. 5 two of the granules are shown to be of an ellipsoidal shape. In the telomitic chromosome shown in Fig. 4, two



Text-figs. 1-3. ×1300×$\frac{2}{3}$.

1 and 2. *Trillium.* Metaphase I. 1. A bivalent chromosome with two ellipsoidal granules. 2. The same with two spherical and one dumb-bell shaped granules.

3. *Lilium.* Trivalent (a), bivalent (b), and univalent (c) with 6, 4, and 2 attachment chromomeres respectively.

Text-figs. 4-8. ×1300×$\frac{2}{3}$.

4. *Trillium.* A bivalent chromosome in metaphase I showing traction cones.

5. The same. Anaphase I.

6. *Lilium.* Polar view of anaphase I.

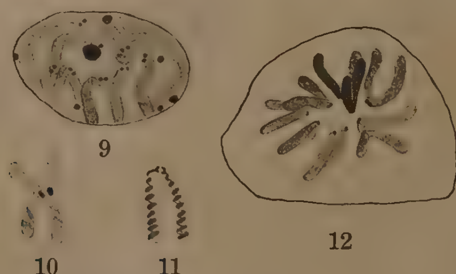
7. *Trillium.* Anaphase I showing two traction cones of fishing-hook shape.

8. *Lilium.* Telophase I.

granules are also found at the point of the spindle fibre insertion, being disposed at right angles to each other. In the case of *Lilium tigrinum* too, two granules are found in each chromosome (Text-fig. 6). In the chromosome fixed with the S_1 solution, the traction cones are again demonstrable very clearly at the points of spindle fibre insertion. Figs. 5 and 6 are side views of anaphase in *Trillium* fixed with the S_1 solution, showing the granules situated at the apices of the traction cones (the chromosomes indicated by arrows). In general the traction cones are more slender in the anaphase than in the metaphase. In one case the traction

cone was seen to be single as shown in Fig. 5, but in others (Fig. 6) a pair of traction cones were found, presenting an appearance resembling the antennae of a helix. The two traction cones are found usually at an angle to one another. In Text-fig. 7, the proximal portions of the two traction cones are bent outwards from each other, so that each assumes the shape of a fishing-hook. The traction cones are stained faintly with haematoxylin as in the case of metaphase. Both traction cones and granules are FEULGEN positive, presenting the reddish reaction colour, though the colour is deeper in the granules than in the traction cones.

A polar view of the telophase chromosomes fixed with the modification of FLEMMING's stronger solution is shown in Fig. 7. The granules are seen more or less clearly in each chromosome. Text-fig. 8 is a side view of the telophasic chromosomes in *Lilium tigrinum* fixed with the same fixative. In each of these chromosomes two granules of spherical shape are seen with some distinctness.



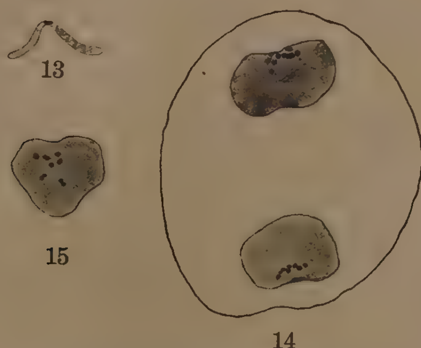
Text-figs. 9–12. *Trillium.* $\times 1300 \times \frac{2}{3}$.

9. Interkinesis nucleus.
10–11. Chromosomes in metaphase II. 10. Showing an atelomitic chromosome. 11. Showing a practically telomitic chromosome with < >-shaped attachment chromomeres composed of four granules.
12. Anaphase II.

Interkinesis. Text-fig. 9 shows the nucleus in interkinesis fixed with the modification of FLEMMING's stronger solution. Pairs of granules are distinctly visible in the faintly stained chromosomes. In this stage the granules are usually spherical in shape.

Metaphase II. In the homotype metaphase, the granules are also found in the chromosomes. The chromosomes fixed with the modification of FLEMMING's stronger solution are shown in Text-figs. 10 and 11. In Text-fig. 10 the granules are dumb-bell shaped. In the telomitic chromosome shown in Text-fig. 11, this granule at the proximal end of each

daughter chromosome is of a V-shape, so that the two V-shaped bodies of sister chromosomes assume the <>-shape. The granules of the dumb-bell shape and those of the V-shape shown in Text-figs. 10 and 11 seem, as in the case of the heterotype metaphase, each to represent two adjacent granules being made to appear to be single by an inadequate fixation or an insufficient differentiation in staining. This interpretation leads to the assumption that the granules are four in number in the homotype metaphase chromosome. In *Trillium* fixed with the S_1 solution the traction cones are found on both sides of the chromosome. A side view of the metaphase is shown in Fig. 8. In the chromosomes on the right hand side of the figure the traction cones are observed with some distinctness.



Text-figs. 13–15. *Trillium*. $\times 1300 \times \frac{2}{3}$.

13. A chromosome in anaphase II showing the dumb-bell shaped granules.
14. Two nuclei in telophase II.
15. The same showing seven granules of which three are dumb-bell shaped and the remaining ones are spherical in shape.

Anaphase II and telophase II. A polar view of the anaphase chromosomes in the homotype division in *Trillium* is shown in Text-fig. 12. In this figure the granules are clearly seen at the points of the spindles fibre insertion. In some of these chromosomes two of the granules can be seen in one chromosome. In Text-fig. 13 a granule of the dumb-bell shape which implies two granules lying close to each other is seen with distinctness. In the telophase too, the granules are distinctly demonstrable. Fig. 9 is a polar view of the telophase in *Trillium* fixed with the modification of FLEMMING's stronger solution. The deeply stained granules are shown in this figure. The nuclei in the late telophase are shown in Text-fig. 14.

In this case, owing to a strong decoloring, the individual chromosomes are hardly visible, but deeply stained granules are seen very clearly at the polar regions of both nuclei. The number of these granules in a nucleus varies from seven to ten. Nuclei in telophase in *Trillium* is shown in Text-fig. 15. In this nucleus three granules out of seven show the dumb-bell shape.

Conclusion

FUJII and YASUI (1936) have observed that in metaphase I, the traction cone is visible in living material, and that while in the early metaphase I the proximal end of this cone is sharply pointed, it becomes less sharp gradually as the stage advances, and in the anaphase I the cone disappears entirely. According to NEBEL (1935), the terminating fine thread at the spindle fibre insertion is probably a result of acid fixation. He has observed that as the acid in the fixing mixture is decreased in amount, the thread becomes shorter and finally disappears.(1) In the present investigation the traction cone was demonstrable in the material fixed with the S_1 solution containing acetic acid and not in the material fixed with the modification of FLEMMING's stronger solution without acetic acid, in accordance with the result of NEBEL. It seems highly probable that the traction cone which is observed in the living state of the cell (FUJII and YASUI, 1936) can only be fixed with fixatives containing acetic acid. In the case of the fixative deprived of the acid, the cone is contracted and the attachment chromomere appears to lie directly on the chromosome.

According to SCHRADER (1936), in *Amphiuma* the "spherules" are four in number in the bivalent chromosome and one in the half chromosome of metaphase II. TRANKOWSKY (1930) has observed a pair of granules in the somatic chromosome in prophase and metaphase, and a single granule in anaphase in *Vellevallia, Crepis* and *Najas*. These results obtained by SCHRADER and TRANKOWSKY show that each undivided chromosome has one attachment chromomere. In the present investigation, the granules were six in the trivalent, four in the bivalent and two in the univalent (dyad) chromosomes respectively. In the interkinesis the chromosomes (dyads) also show each two attachment chromomeres. Hence we have one attachment chromomere for each monad or undivided chromosome. This result is, therefore, in accord with those of SCHRADER and TRANKOWSKY, but in the metaphase II, each half chromosome (monad) has two granules instead of one. If a definitive chromosome carries one attachment chromomere, the half chromosomes in the meta-

(1) Cited from SCHRADER (1936).

phase II must be regarded as divided ones, a conclusion which is consistent with the result of observation that the tertiary split is visible in the heterotype division. In *Trillium*, from seven to ten granules were observed in the nucleus in the telophase II. Here, we must assume that in the case of ten granules, each granule is a double one and in the case of seven (Text-fig. 15), three granules of dumb-bell shape represents two double ones each, because in this plant the *n* number of chromosomes is ten.

Summary

1) The pollen mother cells in *Trillium Smallii* MAXIM. and those of *Lilium tigrinum* GAWL. were observed in paraffin sections.

2) The attachment chromomeres are demonstrable in the chromosomes throughout from an early metaphase I to the end of the homotype division.

3) The number of attachment chromomeres in the metaphase I is six in the trivalent, four in the bivalent and two in the univalent chromosomes respectively.

4) In interkinesis a pair of granules are observed in the dyad chromosome.

5) In the second metaphase they are four in number instead of two, and two in anaphase and telophase.

6) In the nucleus in telophase II of *Trillium*, the total number of the granules varies from seven to ten.

7) The shape of the granule or the attachment chromomere is spherical or ellipsoidal. The dumb-bell shaped, double granules are sometimes observed.

8) In the material fixed with S_1 solution of HUSKINS and SMITH (1935) the traction cone of FUJII and YASUI (1936) is visible in both hetero- and homotype divisions.

9) The attachment chromomere is positive to FEULGEN's nucleal reaction.

Literature cited

DARLINGTON, C.D. 1933. Meiosis in *Agapanthus* and *Kniphofia*. Cytologia **4**.

FUJII, K., and K. YASUI. 1936. Cell structure and cell division (Japanese). Hattori Hokokai Kenkyushoroku **11**.

HUSKINS, C. L., and S. G. SMITH. 1935. Meiotic chromosome structure in *Trillium erectum*. Ann. of Bot. **49**.

KATO, K. 1935. Chromosome behaviour in the interkinesis I. Observation of pollen mother cells in *Tradescantia reflexa*. Mem. Coll. Sci. Kyoto Imp. Univ., S.B. **10**.

MATSUURA, H. 1937. Chromosome studies on *Trillium kamtschaticum* PALL. III. The mode of chromatid disjunction at the first meiotic metaphase of the PMC. Cytologia **8**.

NAWASCHIN, S. G. 1916. Sur quelques indices de l'organisation intérieure des chromosomes. Recueil d'articles scientifiques dédiés au Clément TIMIRIAZEFF, Moscou (russe).

NEBEL, B. R. 1932. Chromosome structure in *Tradescantiae* I. Methods and morphology. Z. Zellforsch. **16**.

SCHRADER, F. 1935. Notes on the mitotic behaviour of long chromosomes. Cytologia **6**.

———. 1936. The kinetochore or spindle fibre locus in *Amphiuma tridactylus*. Biol. Bull. **70**.

TRANKOWSKY, D. A. 1930. "Leitkörperchen" der Chromosomen bei einigen Angiospermen. Z. Zellforsch. **10**.

Explanation of plate VII

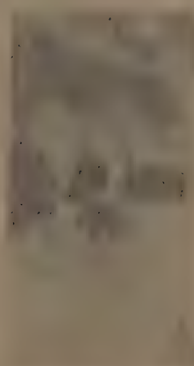
All the figures are photomicrographs taken with ZEISS imm. 1/12 and comp. oc. 15×. Figs. 2, 3, 5, 6 and 8 are from the material fixed with S_1 solution, and all the rest are from that fixed with the modification of FLEMMING's stronger solution.

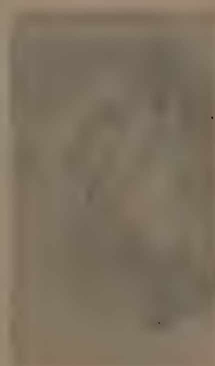
Fig. 1. Polar view of metaphase I showing attachment chromomeres.
Fig. 2. Side view of metaphase I showing traction cones.
Fig. 3. The same. The traction cones are not visible.
Fig. 4. Anaphase I chromosomes showing two attachment chromomeres.
Fig. 5. The same showing traction cone.
Fig. 6. The same showing a chromosome with two traction cones.
Fig. 7. Polar view of telohapse I showing attachment chromomeres.
Fig. 8. Side view of metaphase II showing traction cones.
Fig. 9. Polar view of the anaphase II showing attachment chromomeres.

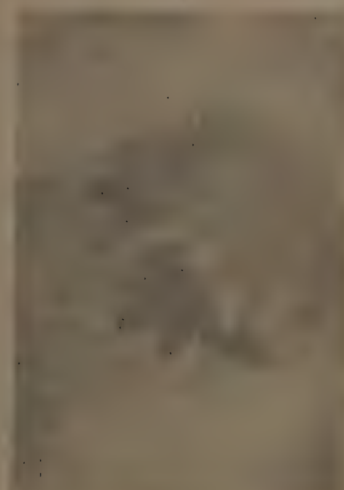
PLATE VII



1

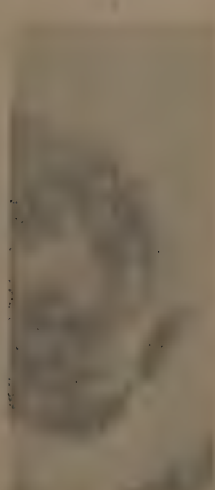








5





7





[illegible] mother cells in *Tradescantia reflexa*. Mem. Coll. Sci. Kyoto Imp. Univ. S. B. **10**.

MATSUURA, H. 1937. Chromosome studies on *T[illegible] kamtschaticum* PALL. III. The mode of chromatid disjunction at the [illegible] meiotic metaphase of the [illegible]. Cytologia **8**.

NAWASCHIN, S. G. 1916. Sur quelques indices de [illegible] des chromosomes. Recueil d'articles scientifiques [illegible] (russe).

NEBEL, B. R. 1932. Chromosome structure in [illegible] I. Methods and [illegible]phology. Z. Zellforsch. **16**.

SCHRADER, F. 1935. Notes on the mitotic behavior of [illegible] chromosomes. Cytologia **6**.

———. 1936. The kinetochore or spindle fibre locus [illegible] *tridactylus*. [illegible] Bull. **70**.

TRANKOWSKY, D. A. 1930. "Leitkörperchen" der [illegible] einigen Angiospermen. Z. Zellforsch. **10**.

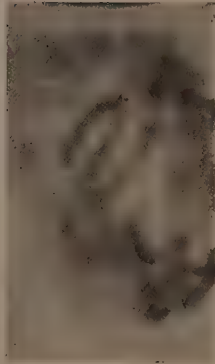
[illegible] plate [illegible]

All the figures are [illegible]micrographs taken with Zeiss [illegible] 15 ×. Figs. [illegible] from the material fixed with [illegible]

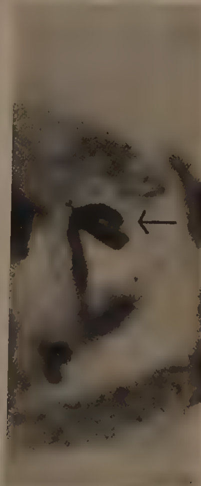
[illegible]


1


2


4

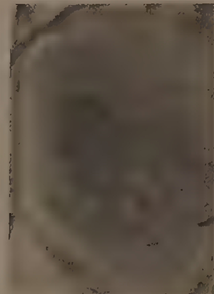

3


5


6


7


8


9

Artificial uncoiling of the chromonema spirals with neutral salt solutions

By Mitio SIGENAGA[1]
Botanical Institute, Kyoto Imperial University

With plate VIII

(Received February 1, 1940)

The artificial uncoiling of the chromonema spirals of the meiotic chromosomes which was realized by KUWADA and NAKAMURA (1934) with ammonia vapour in *Tradescantia reflexa* was tried with success by other investigators with other chemicals—by OURA (1936; KUWADA, SINKE and OURA, 1938) with potassium cyanide, ammonium sulphate, potassium hydroxide, sodium hydroxide, sodium cyanide, secondary sodium phosphate, sodium hypochlorite and sodium bicarbonate, and by SINKE (1937; KUWADA, SINKE and OURA 1938) with ammonium hydroxide, ammonium chloride and ammonium thiocyanate—and the importance of the uncoiling as a method of investigation of the problem of chromosome structure has been pointed out by KUWADA, (1937) and KUWADA, SINKE and OURA (1938). In the present investigation, solutions of neutral salts, NaCl and KNO_3, were used as the uncoiling agents, this being suggested by the results of the author's own experiments carried out in 1931[2] and those of SINKE (1939) and STRUGGER (1930).

General Method. Pollen mother cells of *Tradecantia reflexa* smeared on the slide glass were covered with a drop of one of the salt solutions in different concentrations for some variable length of time, and then the solution being removed by blotting paper, the material was stained with acetocarmine for observation.

Results. By this method the chromonema spirals can be uncoiled satisfactorily. The results are comparable with those obtained by KUWADA and NAKAMURA (1934) and by OURA (1936). In Fig. 1, the double-coiled nature of the metaphasic chromosome spirals is seen, and

(1) The author's name which was spelled MICHIO SHIGENAGA formrely is spelled henceforth MITIO SIGENAGA.

(2) Unpublished, but the general results obtained have been cited by KUWADA (1932, 1937).

in Fig. 2 the major spirals are extensively uncoiled. In Fig. 4 the minor spirals are clearly visible, especially in the upper chromosomes of the lower cell. When the influence of the solution is stronger, a further uncoiling is effected, and a mass of irregularly convoluted fine chromonemata—an imitation of the nucleus from metaphasic chromosomes—results.

In both cases where NaCl and KNO_3 are used, the concentration of the solution which is suitable for the moderate uncoiling of the chromonema spirals is 0.4 N, and the suitable time of treatment with this solution is 10 to 15 minutes. In the case of 0.5N solution the influence is stronger in both NaCl and KNO_3, and the uncoiling takes place far more extensively. In this case the chromonema spirals are usually uncoiled to such an extent that the result is an imitation of the nucleus. In order to obtain figures of the spirals moderately uncoiled, the time of treatment must be as short as possible. Fig. 4 is taken from a preparation in which the material was stained with acetocarmine after a drop of 0.5N NaCl solution had been removed immediately after the addition to the material. Even in such a quick treatment the unravelling often advances to the extent that the territories of the individual chromosomes become hardly distinguishable, though the double-coiled aspect is still recognizable here and there, the major spirals remaining uncoiled in these places. This is a transition figure between the normal and the imitation nucleus.

The solutions in concentrations lower than 0.4N do not result in the uncoiling of the spirals, but the spirality is more clearly manifested (cf. Fig. 3) when the material is pre-treated with some of these solutions, 0.3N or 0.05N, before staining, than when stained directly without the pre-treatment. The result is the same when the material is pre-treated with city-water.(1) In these cases, the stained chromosomes show clear spirals, but before staining no chromosomes or spirals are visible at all as they are in the case where the solutions in higher concentrations are used; the spirals appear only when stained. It seems, however, highly probable that in these cases, the swelling of the matrix is not so extensive as when the higher concentrations are used.

It is advisable that a 0.15N solution be used before the treatment with solutions of higher concentration, because in this medium we can determine in what stage of division the chromosomes to be uncoiled are. In the experiments carried out in 1931, it was observed that the chromosomes which swelled and disappeared in alkali metal salt solutions of

---

(1) According to verbal information, OURA (unpublished) has obtained the same result by the pre-treatment with city-water, and recently MATSUURA (1938) has also reported that the same results are obtained by the pre-treatment with usual tap or distilled water.

0.3N and 0.05N, are made visible again when the medium is replaced with a solution of 0.15N.

Remarks. From the results of experiment mentioned above, it may be seen that there are differences among the solutions of different concentrations in their power of making chromosomes swell. In the present investigation it was confirmed that among the solutions of concentrations, 0.5N, 0.4N, 0.3N, and 0.05N, the swelling influence on the chromosome matrix is strongest in the case of the 0.5N, the chromonemata being unravelled to such an extent that when stained with acetocarmine the mass of metaphasic chromosomes appears to be a mass of the chromonemata irregularly convoluted—"the imitation nucleus"; weaker in the case of the 0.4N, causing only the uncoiling of the major spirals of the chromonemata; and weakest in the cases of the 0.3N and 0.05N, a clear presentation after staining, of the double-coiled structure of the chromosomes being here the main result. If in these cases the swollen chromosomes are fixed with osmium vapour, no chromosomes nor chromonemata are visible at all (cf. STRUGGER 1930). Thus we may say that the procuring of visible forms of chromonemata unravelled artificially with chemicals depends on the following two factors: the swelling property of the matrix substance and the power of fixing agents to make the chromonemata shrink. The unravelling in living state of the chromonemata in metaphase (experimental) and in telophase (natural), on the other hand, is usually not accompanied by the swelling of the chromonemata. The swelling of the matrix is here only a prominent feature in the unravelling of the chromonema spirals.

In the present investigation only sodium chloride and potassium nitrate solutions were used. But, from the unpublished results obtained in the previous investigation in 1931, it can be inferred that the same results may be obtained with other alkali metal and alkali earth metal salt solutions. Of course it is expected that there should be differences of wide range between the cases of alkali metal salts and those of alkali earth metal salts in the concentration needed to unravel chromosomes and also differences of some range even among alkali metal salts themselves.

Summarizing the results obtained in the present investigation, we may say that neutral salt solutions are employable for the purpose of artificial unravelling of the chromonema spirals, and that this method is as convenient and effective as when solutions of alkaline reaction are used.

I wish to acknowledge my indebtedness to Prof. Y. KUWADA under whose kind guidance and criticism the present investigation was carried out.

Literature cited

KUWADA, Y. 1932. The life cycle of chromosome. Kagaku Vol. **2**. (Japanese).

KUWADA, Y. and NAKAMURA, T. 1934. Behaviour of chromonemata in mitosis II. Artificial unravelling of coiled chromonemata. Cytologia Vol. **5**.

KUWADA, Y. 1937. Chromosome structure. (Japanese) Tokyo.

KUWADA, Y., SHINKE, N. and OURA, G. 1938. Artificial uncoiling of the chromonema spirals as a method of investigation of the chromosome structure. Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. **55**.

MATSUURA, H. 1938. Chromosome studies on *Trillium kamtschaticum* PALL. XI. A simple new method for the demonstration of spiral structure in chromosomes. Cytologia Vol. **9**.

OURA, G. 1936. A new method of unravelling the chromonema spirals. Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. **53**.

SHINKE, N. 1937. An experimental study on the structure of living nuclei in the resting stage. Cytologia Fujii Jub. Vol.

SINKE, N. 1939. Experimental studies of cell-nuclei. Mem. Coll. Sci. Kyoto Imp. Univ. B. Vol. **15**.

STRUGGER, S. 1930. Beitrag zur Kolloidchemie des pflanzlichen Ruhekernes. Protoplasma Bd. **10**.

Explanation of plate VIII

All the figures are photomicrographs of pollen mother cells in *Tradescantia reflexa*.

Fig. 1 and 2. I-metaphase, stained with acetocarmine after 10 minutes pre-treatment with 0.4N NaCl solution. Photographed with Zeiss' apoch. imm. 2mm. and comp. oc. K 15×.

Fig. 3. I-metaphase, fixed with 50% acetic acid solution after 2 minutes pre-treatment with 0.3N KCl solution. Photographed with Zeiss' homog. imm. 1/12 and comp. oc. K 15×.

Fig. 4. I-metaphase, stained with acetocarmine after immediate removal of a drop of 0.5N NaCl solution added to the material. Potographed with Zeiss' apoch. imm. 2mm. and comp. oc. K 8.









[illegible] spiral.

Literature cited

[illegible] Y. [illegible] The life cycle of chromosome. Kagaku Vol. 2. (Japanese).

[illegible], Y. and NAKAMURA, T. 1934. Behaviour of chromonemata in mitosis II. [illegible] unravelling of coiled chromonemata. Cytologia Vol. 5.

[illegible] Y. 1937. Chromosome structure. (Japanese) Tokyo.

[illegible] Y., SHINKE, N. and OURA, G. 1938. Artificial uncoiling of the [illegible] [illegible] Mikrosk. Bd. 55.

[illegible] simple new method for the demonstration of spiral structure in chromosomes. Cytologia Vol. 9.

[illegible] 1936. A new method of unravelling the chromonema spirals. [illegible] Mikrosk. Bd. 53.

[illegible] 1937. An experimental study on the structure of living nuclei in the [illegible] stage. Cytologia Fujii Jub. Vol.

[illegible] Experimental studies of cell-nuclei. Mem. Coll. Sci. Kyoto Imp. [illegible]

[illegible] Beitrag zur Kolloidchemie des pflanzlichen Zellkernes. [illegible]

[illegible] plate VIII

[illegible] 1.12 [illegible]

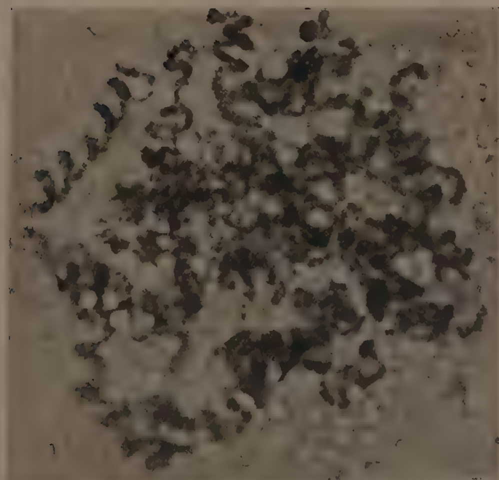
[illegible] apoch. imm. 2mm. [illegible]



1



3



2



4

Physiologisch-morphologische Studien über *Armillaria mellea* (VAHL) QUÉL., mit besonderer Rücksicht auf die Oxalsäurebildung

Ein Nachtrag zur Mykorrhiza von *Galeola septentrionalis* REICHB. f.

Von Minoru HAMADA

Botanisches Institut, Wissenschaftliche Fakultät,
Kyoto Kaiserliche Universität, Kyoto

Mit Tafel IX und 15 Textfiguren

(Eingegangen am 12. Februar 1940)

Inhaltsverzeichnis

I. Einleitung

In der letzten Arbeit habe ich gezeigt, dass eine mächtige holosaprophe Orchidee, *Galeola septentrionalis*, mit einem holzzersetzenden Pilz, *Armillaria mellea*, eine Symbiose ausmacht, wobei der Wirt gegen den eindringenden Pilz verschiedene Reaktionen wie Membranverholzung, Kerndeformation usw. in Bezug auf die tolypophage Verdauung aufweist, während der Pilz selbst auch dabei verschiedene Wachstumsmodifikationen wie „intraradicale Rhizomorpha", Absendung der Suchrhizomorpha usw. erfährt. Es gibt auch einige symbiotische Produkte wie Kalkoxalatkristalle, Bräunung der Wirtszellen in der Aussenrinde etc. Diese Reaktionen sind merklich verschieden von denen von *Gastrodia elata*, selbst mit demselben Pilz.

Bei vorliegender Arbeit wurden solche Reaktionen in der Pilzwirtsschicht sowie das Leuchten, welches diesem Pilze eigen ist, auf kulturellem Wege analysiert. Die Analyse, welche natürlich die Bedeutung der Mykorrhizensymbiose an den Tag bringen sollte, wurde hier indes auf die Reaktionen den Nährstoffen gegenüber beschränkt. Andere Bedingungen wie Temperatur und Wuchsstoffe, welche eine grosse Rolle in der Pilzphysiologie zu spielen scheinen, wurden nicht näher berücksichtigt.

Besonders grossen Dank schulde ich Herrn Professor Dr. K. Koriba, unter dessen freundlicher Leitung diese Arbeit ausgeführt wurde. Den Herren Dr. Asida, Imamura, Ono; Herren Prof. Dr. Tanaka, Prof. Dr. Nakao aus dem chemischen Institut; Herren Prof. Dr. Hemmi, Prof. Dr. Abe, Dr. Akai, Dr. Inoue und Dr. Imura aus der landwirtschaftlichen Fakultät der Universität bin ich für ihre verschiedenartigen Hinweise und Erleichterungen bei dieser Arbeit ebenfalls zu grossem Dank verpflichtet. Der Stamm *Armillaria mellea* Nr. 105 (s. Tab. I) wurde vom Herrn Dr. Kitajima, Tokyo, geliefert. Ich hoffe, dass die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit ihm eine gewisse Befriedigung bieten mögen.

II. Geschichtliches und Grundzüge der Arbeit

Kurz nachdem Pasteur und Koch in der Mitte des vorigen Jahrhunderts die Züchtungsmethode für Bakterien und Hefen gefunden hatten, hat Brefeld (1875) dieselbe weitgehend auf die Pilze im allgemeinen ausgedehnt. Die Physiologie der Pilze hat hiernach einen grossen Sprung gemacht, und zwar in zwei Richtungen, nämlich in Bezug auf Gährungschemie und Pflanzenpathologie. Die Gährungschemie hat sich entwickelt mit leicht kultivierbaren Organismen, wie gewissen Bakterien, Hefen und Schimmelpilzen, die meist nur eines Zuckers und anorganischer N- etc. -Salze bedürfen. Bei den pflanzenpathologischen Untersuchungen, bei denen meist die höheren Pilze behandelt wurden, war es zuerst wichtig, ausser Konstatierung der brauchbaren C- bzw. N-Quelle—also Kultivierungsmethode selbst—, sich mit der Prüfung der optimalen Bedingungen überhaupt wie pH, Temperatur, usw., sowie mit den Bekämpfungsmethoden für die betreffenden Krankheitserreger zu beschäftigen. Im letzteren Falle handelte es sich somit um die Widerstandsfähigkeit der Pilze gegen Gifte, die Fähigkeit der Enzymbildung etc. Es wurde aber dabei die Ausscheidung der organischen Säuren etc. meist nicht berücksichtigt, wenngleich diesbezügliche Angaben bei der Gährungschemie mit den Schimmelpilzen wie *Aspergillus niger* etc. so reichlich und verwickelt vorhanden sind, dass wir daraus oft keinen sicheren Schluss ziehen können; ebensowenig schenkte man auch der Ausscheidung der Farbstoffe in den Nährböden oder im Pilzkörper selbst, bzw. derjenigen der Guttationsflüssigkeit auf den Myzelrasen etc. genügend Aufmerksamkeit, weil alle diese Eigenschaften weder technisch noch pathologisch von Wichtigkeit zu sein schienen, ausser dass das Leuchten, die Lichtausscheidung, des biologischen Interesses wegen von Biologen und Chemikern näher untersucht worden ist (vgl. Molisch, Anderson, Niel, Nakamura).

Einige von diesen Reaktionen wurden bei der grossen Anzahl von Pilzen, vor allem bei Holzzerstörern, sehr oft als „diagnostische Merkmale ohne Fruchtkörper" benutzt, ohne dass jedoch dabei eingehendere Studien bezüglich Entstehungsmechanismus jeder Eigenschaft bzw. Korrelationen derselben miteinander gemacht wurden (vgl. diesbezüglich und über Kulturversuche überhaupt Bavendamm's chronologische zusammenfassende Darstellung 1936 und Kitajima 1930). Dies war auch bei den „stämmlichen Differenzen" der Pilze der Fall, ausser dass sie bei den Säurebildungen der Schimmelpilze ziemlich gut beobachtet worden sind, worauf später auf S. 434 ff. etwas näher eingegangen werden soll.

Das Gesagte gilt auch betreffs der Forschung von *Armillaria mellea*, einem Holzverzehrer. Durch viele Pflanzenpathologen, vor allem durch Reitsma 1932, wurde konstatiert: die geeignete C- und N-Quelle, das optimale pH (= ca. 5,0), die optimale Temperatur (= ca. 25°C), etc. und die Bekämpfungsweise des Pilzes, während die obengenannten „Ausscheidungen" meist nur beiläufig bemerkt wurden. Unbekannt ist auch das Wuchs-

stoffbedürfnis bei diesem Pilze, wenngleich neulich durch FRIES u. a. der er te Lichtstrahl auf die Lösung dieser Frage bei anderen Holzverzehrern geworfen wurde. Über die stämmlichen Differenzen gegen Gifte bei *Armillaria mellea* berichtete auch REITSMA einiges.

Es gelang REITSMA sehr leicht, auf verschiedenen Nährmedien Fruchtkörperbildung dieses Pilzes zu erhalten. Er empfahl für Rhizomorphabildung z. B. einen Pepton (1%)-Glukose(3%) -Saccharose(2%) -Agarboden (also N:C = ca. 1:5) mit Salzzusatz (mit oder ohne Kalk). Was mich hier interessiert, ist seine Behauptung, dass zwischen 3 Eigenschaften, nämlich der Fruchtkörperbildung, Rhizomorphabildung und dem Leuchten, eine Parallelität vorhanden sei. Die Fruchtkörperbildung soll stets auf den für die Rhizomorphabildung günstigen Böden stattfinden, auf welchen auch das Leuchten maximale Anregung erhalten soll. Auf den Böden, die lediglich Luftmyzel bilden lassen, wurde das Leuchten niemals beobachtet (REITSMA S. 517, 504/5), was, wie erläutert werden wird, mit meinen vorliegenden Ergebnissen etwas in Widerspruch steht. Auch sagte er, dass das Kirschagar die Rhizomorpha gut, aber das Myzel schlecht bilden lasse, während der Pilz auf dem Maismehl-, Hefemalz-, Erdnuss-Agar sich umgekehrt verhalte (REITSMA S. 466)(1), und dass in gewissen Böden das Myzelwachstum schlecht sei und die Böden sich braun verfärbten u. a. m. (REITSMA S. 466).

CAMPBELL (1934) beobachtete auch bei *Armillaria mellea*, dass im Innern gewisser Nährböden die gebildeten Rhizomorphen flach und weiss sind und oft ein Zoll Breite (Dicke: unter 1/8 Zoll) betragen, aber in der Luft in eine zylindrische Form übergehen, und dass auf Malzagar die Luftmyzelbildung sehr reduziert wird und die gebildeten Rhizomorphen wie im Felde schwarz sind (1934, S. 4, 18 und 19). Verschiedentlich sagte CAMPBELL auch, dass die „schwarze Linie", die der Pilz im Holz aufweist und mit der unsere „Braunhaut" (S. 393) übereinzustimmen scheint, der Hautregion der Rhizomorphen homolog ist. Einige Fragen betreffs dieser kulturellen Eigenschaften sowie ihrer Verhältnisse zueinander werden durch die vorliegenden Versuche gelöst.

Wie nun verhalten sich die verschiedenen Tätigkeiten wie Wachstumsmodi, Kalkoxalatkristallbildung, Bräunung usw., in der Mykorrhiza?

Die Angaben hierüber sind sehr gering, wennwohl diese ohne Zweifel den wichtigsten Gegenstand der Mykorrhizaforschung ausmachen. Die einzige Angabe ist die BURGEFF's, dass die Kalkoxalatkristallbildung in her Pilzwirtsschicht von *Galeola hydra* darauf hindeuten soll, dass durch diesen Ausscheidungsprozess Wasser in die Pflanze geliefert wird (BURGEFF 1932, S. 186). Hierüber wird in Kapitel X diskutiert werden.

Um das endgültige Ziel der vorliegenden Arbeit, die Lösung der Mykorrhizaprobleme, zu erreichen, war es indes besonders wünschenswert, wie ersichtlich, zwischen allen genannten Pilzeigenschaften bzw. Pilzreaktionen, wie z. B. zwischen Wachstum und „Ausscheidungen" und zwischen den „Ausscheidungen" selbst, etwaig vorhandene Korrelationen zu erkennen, welche bei den biochemischen sowie pathologischen Untersuchungen nicht näher behandelt worden waren. Es waren ausserdem auch diejenigen Reaktionen wie Oxalsäurebildung, die wir bei *Armillaria mellea* zum ersten Male untersuchen müssen, oder der komplizierte Umstand, dass bei diesem Pilz drei Wachstumsreaktionen vorliegen, nämlich Rhizomorpha, „Braunhaut"- und gewöhnliche Myzelbildung, wofür die Bildungsbedingungen vielleicht voneinander verschieden sind, wenngleich frühere Forscher wie REITSMA diese drei nicht unterschieden, sondern das Ganze bloss als „Wachstum" durch Trockengewichtsmethode untersuchten.

---

(1) Vgl. auch KITAJIMA 1930; BULLER Bd. III 1924 S. 418 (Leuchten).

Ich musste demnach bei der vorliegenden Untersuchung, die in grossen Zügen in Orientierungs-, Haupt- und Nachversuche eingeteilt werden kann, zuerst im Finstern tappen:

Bei den Orientierungsversuchen versuchte ich zuerst 8 Stämme von *Arm. mellea* (einschl. *Galeola*-Symbionten, s. Tab. I), die damals zur Verfügung standen, auf die zehn, gleich damals zur Hand gehabten Nährbodenarten zu impfen, ohne aber zu einer einzigen Einsicht in das Ergebnis zu kommen. Die Ergebnisse verrieten uns jedoch, dass auf die verschiedenen Eigenschaften, besonders auf das Wachstum und die Kalkoxalatbildung, das Verhältnis der organischen N-und C-Quellen (N:C), die den Nährböden als Pepton und Kohlehydrate zugefügt worden waren, einen grossen Einfluss ausgeübt hat, worüber meines Wissens kein einziger Verfasser bis jetzt nähere Untersuchungen angestellt hat, nur dass z. B. NIKITINSKY (1904, S. 83–85, Tab. XXII, etc.) bei *Aspergillus niger* mit konstanter Menge (1, 72%) von weinsaurem Ammon als N-Quelle die Mengen Glukose varieren lässt und die Erntegewichte gewogen hat u. dgl. (vgl. auch STEINBERG u. a. 1939).

Bei den Hauptversuchen liess ich demnach beim synthetischen Boden das N:C Verhältnis durchgreifend so varieren, dass man dieselben N:C bei verschiedenen C-Zusätzen gewinnt, wobei 36 Arten Nährböden verwendet wurden (Versuch Glukose-Pepton-Reihe). Dabei stellte sich heraus, dass alle Eigenschaften ausser der Luftmyzelbildung und Nährbodenbräunung mehr oder minder stark vom N:C abhängig sind. Z. B. fängt die Oxalsäurebildung stets mit dem N:C=1:4 an, wo die Rhizomorpha- und Braunhautbildung zugleich ein Maximum darstellen, wenngleich diese beiden letzteren sich in gewissen anderen Punkten von einander unterscheiden. Aus den Versuchen anderer Nährböden-Reihen, und zwar bei den Hauptversuchen, wurde auch ersichtlich, dass die Ergebnisse von der Glukose-Pepton-Reihe im grossen ganzen allgemeine Gültigkeit haben, z. B. für die natürlicheren Sojasauce- bzw. Kartoffelagarböden. Ausserdem wurden bei den Hauptversuchen einige Untersuchungen hinsichtlich pH, Salzmangel etc. angestellt.

Bei den Nachversuchen wurden einerseits die Wuchsstoffbedürfnisse der Pilze bei der Rhizomorphabildung usw. noch näher geprüft (Nachversuch 1.), und andererseits, ob die einmal gebildeten Kalkoxalatkristalle unter Umständen, und zwar durch nachstehenden Zuckerzusatz, welcher das N:C unter 1:4 herabsinken lässt, wieder verwendet werden können oder nicht (Nachversuch 2.). Das Ergebnis war ganz positiv.

Auf Grund der obigen Ergebnisse sowie durch Zusammenfassen der bisher erzielten Resultate der Biochemiker betreffs der Oxalsäurebildung bei Schimmelpilzen wurde in Kapitel VIII ein Zusammenhang des Säurebildungsvermögens der Pilze in verschiedenen Substraten mit der Ernährungsweise derselben diskutiert. Wie dort näher erörtert werden wird, scheint die Oxalsäurebildung nicht ein für den Stoffwechselprozess unerlässlicher Vorgang des Pilzes, sondern ein für diesen durchaus überflüssiger Vorgang zu sein, weil der Pilz selbst durch diesen keinen Vorteil gewinnen kann, sondern vielmehr durch denselben einen gewissen Nachteil erleidet, ausser dass diese „Ausscheidungen" gewisse regulierende Aufgaben besitzen und uns ein Kriterium für den Gesundheitszustand der Pilze in der diese exkretierenden Pilzwirtsschicht der *Galeola*-Wurzel geben.

Die stämmlichen Unterschiede in Bezug auf die leichte oder schwere Brauchbarkeit der zur Verfügung gestellten Nährstoffe für jede Eigenschaft bzw. Reaktion kamen, je eingehender man sie untersuchte, desto mehr zum Ausdruck, sodass mir tief eingeprägt wurde, dass alle Stämme, aus welch nahem Standort sie auch isoliert worden seien, in gewisser Hinsicht mehr oder minder differenziert sind.

III. Kulturelle Merkmale von *Armillaria mellea*

Die ideal entwickelten *Armillaria*-Stämme (9 Stämme, einschl. der *Galeola*- und *Gastrodia*-Symbionten) zeigen verschiedene kulturelle Merkmale auf den Nährböden, die sich im grossen ganzen in Wachstums- und Ausscheidungsreaktionen einteilen lassen. Die ersteren sind die aufbauenden, morphologischen Merkmale, während die letzteren die Abbauprodukte, Sekrete oder Exkrete darstellen.

1. Wachstumsreaktionen.
   - a. Rhizomorphabildung (bzw. deren Form und Farbe).
   - b. Braunhautbildung.
   - c. Myzelbildung im Bodeninnern[1] und in der Luft.
2. Ausscheidungsreaktionen.
   - d. Leuchten.
   - e. Bräunung von Nährböden (und vom Myzel)[1]
   - f. Guttation (und deren Farbe).
   - g. Kalkoxalatkristalle (und deren Form).

1. Wachstumsreaktionen (Fig. 1).

a. Rhizomorphabildung.

Es gibt bei *Armillaria mellea* in Nährböden wie in Wäldern zwei Typen von Rhizomorphen, nämlich eine flach-runzelige,

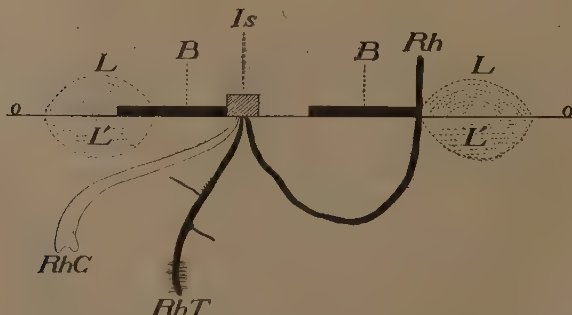


Fig. 1. **Schematische Darstellung des typischen Wachstums von *Armillaria mellea*, sowie von dem *Galeola*- und *Gastrodia*-Symbiont auf Nährboden.** *O——O* Oberfläche des Agarbodens, *Is* Impfstück, *B* Braunhaut, *L* Luftmyzel, *L'* Bodenmyzel, *RhC* Subcorticalis-Form von Rhizomorpha, *RhT* Subterranea-Form derselben.

Aus dem Impfstück, der Braunhaut bzw. der Rhizomorpha verbreitet sich eine grosse Menge von Bodenmyzelien in das Nähragar.

(1) Diese wurden nicht berücksichtigt.

meist weisse *Rh. subcorticalis* und eine rundlich-glatte, meist mehr oder minder schwarzgefärbte *Rh. subterranea.*[1]

Vom Impfstück (*Is*, Fig. 1) heraus wächst in den Nährboden hinein, je nach den Umständen, einer von beiden Typen (s. Fig. 2 und 3), die dort einige submerse Bodenmyzelien bzw. Zweigrhizomorphen aussenden (*RhC* und *RhT* in der Fig. 1).

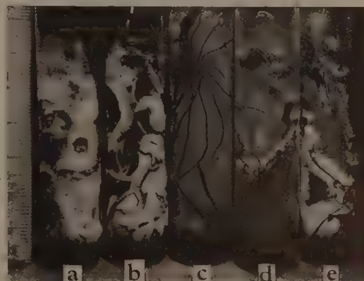


Fig. 2. Stamm *Gastrodia*-Symbiont. Bildung von zwei Formen von Rhizomorphen. *a* und *b* Subcorticalis-Form auf Sojasauce-Agar (Nährboden 67, *a* Vorderseite, *b* Rückseite des schiefen Agar-Bodens), *c-e* Subterranea-Form auf Honig-Hefe-Agar (Nährboden 72; *c* Rückseite, *d* Vorderseite, *e* Profil). Kultur *a* und *b* 31. Dez. 1937, *c-e* 18. Dez. 1937, ca. 24°C, Photo 25. Januar 1938. ×ca. 1/2. Nährböden vgl. Anhangstabelle und S. 404.

b. Braunhautbildung (s. Fig. 3B und Fig. 11, S. 428).

Direkt vom Impfstück, oder sekundär von den in die Luft emporgewachsenen Rhizomorphen, oder seltener vom Luftmyzel, bildet sich oft eine anfangs weisse, später violettbraun werdende Haut (Braunhaut), die etwas brüchig ist. Sie besteht aus oberen, braunsklerenchymatischen 1–2 Zellschichten, die oben in die Luft einige Lufthyphen aussenden, und einigen darunter liegenden weissen Zellschichten. Die Braunhaut ist also als eine Subterranea-Form von Rhizomorpha von unbegrenztem Durchmesser zu betrachten (vgl. CAMPBELL 1934).

c. Luftmyzelbildung (Fig. 5, S. 404).

Die schnallenlosen Hyphen von ca. 1–5 μ Durchmesser bilden auf der Oberfläche vom Agarboden eine mehr oder minder kompakte Masse von Luftmyzelien, die sich später oft gelbbraun bis braunschwarz färbt und leuchtet.

In der Dunkelkammer von ca. 24°C beginnt die Luftmyzelbildung auf dem Impfstück gleichsam bei allen Stämmen nach 5–7 Tagen (auf Sojasauce-Agar, Impfung aus Rhizomorpha oder Braunhaut auf demselben Agarboden). Nach 8 - 10 Tagen kann man bei allen Stämmen die Rhizomorphabildung bemerken, die ca. 4 Wochen nach der Impfung wie die übrigen Wachstumstätigkeiten fast völlig sistiert.

(1) Wie später erläutert werden wird, treten die Form und die Farbe der Rhizomorpha nicht immer entsprechend auf.



Fig. 3. **Mikroskopische Ansicht der Rhizomorpha und Braunhaut.**

A. Eine typische Subterranea-Form von Rhizomorpha (Querschnitt), mit sklerenchymatischer „Markschicht" (*a*, *b* und *c*) und „Markhöhle" (*d*) mit losen Hyphen. Die Markschicht ist in deren Mitte (*b*) am stärksten entwickelt und am schwärzesten gefärbt. Bei den anderen weniger „subterranen" Formen wird die äussere Markschicht (*a*) durch gelatinöse Myzelflechte ersetzt. (×70).

B. Eine gefaltete Braunhaut in senkrechtem Schnitt, mit oberer sklerenchymatischer (schwarz) und unterer parenchymatischer (weisslicher) Schicht. (×70).

C und D. Subcorticalis-Form von Rhizomorpha mit gut entwickelter Markschicht. C.) Quer-, D.) Längsschnitt. (×70).

A.) und B.) Stamm *Galeola*-Symbiont Nr. 1 auf Nährboden Nr. 94 (= HG, vgl. Anhangstabelle). Kultur 11. April 1939; Fixierung (mit schwacher FLEMMING'scher Lösung) 27. Mai 1939. Safranin-Färbung ohne „Differenzierung". C.) und D.) Derselbe Stamm wie A.) und B.). Kultur auf Sojasauce-Agar (Zusammensetzung wie Nährboden Nr. 55, s. Anhangstabelle) 11. April 1939. Die Markschicht ist im allgemeinen schwer färbbar (vor allem bei D.)). Alle Materialien wurden mit dem Agarstückchen zusammen fixiert und geschnitten.

2. Ausscheidungsreaktionen.

d. Leuchten.

Was als sog. stämmliche Differenzen sich am stärksten bemerkbar macht, sind das Leuchten und die oben erwähnte Rhizomorpha-

und Luftmyzelbildung. So bildet z. B. ein Stamm eine starke Rhizomorpha, aber ein armseliges Luftmyzel, während ein anderer eine schwache Rhizomorpha, aber ein starkes, dicht gedrängtes Luftmyzel bildet, das dauernd weiss bleibt. Ein noch anderer Stamm wird aber durch eine mittlere Rhizomorphabildung und ein sich leicht braun färbendes Luftmyzel ausgezeichnet (Fig. 5, 11, 12 und Taf. IX). Das Leuchten ist nicht direkt abhängig von diesen Differenzen des Wachstumsverhaltens sowie der Färbung des Luftmyzels etc. Ein Stamm leuchtet stark mit weissem Luftmyzel, während ein anderer mit braunem ebenso kräftig leuchtet. Der das Luftmyzel am üppigsten bildende Stamm leuchtet nicht immer am stärksten. Auch leuchtet die Rhizomorpha-Oberfläche in der Luft.

Nach den meisten Autoren ist das Leuchten auf einen Oxydationsprozess der Organismen zurückzufüren (Luciferin-Luciferase-Theorie, vgl. BULLER Bd. III, S. 381 ff.; MOLISCH S. 116 ff., 130 ff. „Photogen"; PFEFFER Bd. II, S. 859). Das Leuchten scheint aber von der Atmung unabhängig zu sein (PFEFFER Bd. II. S. 854, 858, Bd. I. 293; MOLISCH S. 128). Nach BEIJERINCK 1915 soll das Leuchten von Bakterien mit deren Peptonassimilation in gewissem Zusammenhang stehen. Man weiss aber heute leider nicht, inwieweit die Umgebungsbedingungen zur Bildung von Luciferin und Luciferase sich getrennt auswirken. Hier wäre vielleicht wichtig zu versuchen, wie jede Komponente dieser wie auch anderer Reaktionen bei der „Einspor-Kultur" von *Armillaria mellea* verteilt werden kann.

Über andere Theorien des Leuchtens als die obige Luciferin-Luciferase- also Chemiluminescenz-) -Theorie vgl. PFEFFER Bd. II, S. 859 (DUBOIS' Kristalloluminescenz-Theorie) und SHIBATA, E. u. a. (Triboluminescenz-Theorie), und über Spektrum BULLER, Bd. III, S. 369 (*Armillaria mellea*), MOLISCH, HANEDA, NIEL. Über die Arten der leuchtenden Pilze s. MOLISCH, BULLER (Bd. III und IV), BOTHE, HANEDA 1939a.

e. Bräunung von Nährböden (Fig. 5 und Tafel IX).

In gewissen Fällen vollzieht sich oft eine sehr bedeutende Bräunung, nicht selten sogar Schwärzung der Nährböden, was vielleicht auf einer Oxidation von Pepton u. dgl. beruht, weil reines Pepton selbst durch Oxidation mit Chrom-Schwefelsäure ein Produkt von gleicher Farbe gibt und diese und die Boden-Bräunung durch starke Reduktion wie durch naszierenden Wasserstoff (Zink plus HCl) wieder gelblich gemacht werden können.[1] Der braune Farbstoff ist in Wasser löslich, unlöslich in Alkohol, Chloroform und Xylol, und gibt mit MILLON'schem Reagens eine schmutzig rotbraune Fällung, was vielleicht zeigt, dass der Farbstoff noch eine

(1) Nach SACKETT (1912) u.a. sollen gewisse Bakterien aus Nitrat und Zucker den gleichen Farbstoff zu beschaffen vermögen. Vgl. auch WEHMER 1891b, S. 310 (*Aspergillus niger* aus organischen Salzen). Diesbezügliche Angaben kann man finden bei: BAVENDAMM, BORTELS, CHRISTENSEN, DANILOV, DMITREVSKY, GRIMES, JORDAN, KLIMENKO, KRAINSKY, LAFER, MORGENTHALER, RIPPEL, SMIRNOW, WIGGER, WILHELM, WILL, WOELTJE, ZIMMERMANN, ohne aber Näheres über den Mechanismus zu erfahren.

Eiweissnatur aufrechthält. Die braunschwarze Färbung von *Rhizomorpha subterranea* erfährt hingegen keine solche Reduktion und bleibt in Balsam-Präparaten unveränderlich, was vielleicht auf eine Melanin-Natur hinweist. Die beiden schwarzbraunen Farbstoffe sind demnach nicht identisch.

f. Guttation.

Mit dem Alter der Kultur scheidet das Luftmyzel auf der Oberfläche einige Guttationstropfen aus, die sich allmählich mit den benachbarten Tropfen zu einem grösseren vereinigen. Die Guttationsflüssigkeit zeigt, wie die Nährböden, eine Färbung von farblos bis zu schwarz (Fig. 5).

g. Kalkoxalatkristallbildung.

Wie bereits erwähnt (HAMADA 1939, S. 173, Fig. 13), scheidet der Pilz diese Kristalle auf gewissen Nährböden aus. Es sind die „Boden-“ und „Hyphen-Kristalle“. Diese Kristalle werden, wie später näher erläutert werden wird, im Gegensatz zu mehreren Angaben über die Schimmelpilze, nach denen dieselben diese auch aus Zucker u. dgl. ausscheiden können, meist nur durch Desaminierung von dem gegebenen Pepton gebildet. Die ausgeschiedenen Kristalle gehören alle zum Tetragonalsystem, also zum Calciumoxalat-Trihydrat (vgl. FREY-WYSSLING, S. 151). Die Kristallformen lassen sich aber ihrer Zusammensetzung nach in die drei folgenden Gruppen einteilen (vgl. Fig. 4):

1. Reihe. Einzelkristalle (Form N-1-2-3-Q).

Meistens stellen sie die Prismen dar (Form 1, 2 und 3), die aber einerseits zur stark prismierten Form N (Nadel), andererseits zu quadratischer Bipyramide übergehen (Form Q).

2. Reihe. Kreuze, Zwillinge und einfacher Büschel (Form F-N′-1′-2′-3′-Q′).

Hierher gehören einige einfache Kreuze oder Zwillinge. Als Sonderfall sei aber ein einfacher Büschel eingeschlossen (Form F).

3. Reihe. Ausstrahlende Formen (Form F′-N″-1″ etc. -B).

Eine radial zusammengesetzte Form, deren Einzelkristalle Nadel- oder Prismenform annimmt. Sie sind aber meist lückenhaft und bilden fast nie eine Sphäritform. Es gibt ferner eine äusserst gedrängte Form B (Blüten), zuweilen sogar warzenförmige bis formlose Aggregate (Form W), die in der Aussenrinde der *Galeola*-Wurzel häufig durch den Pilz ausgeschieden werden.

Auf den Nährböden predominieren meistens die Einzelkristalle, während in der Aussenrinde von der *Galeola*-Wurzel die zusammengesetzten Formen überwiegen (vgl. S 449 und Fig. 15).

IV. Orientierungsversuche

Wie schon einleitend gesagt, waren bei diesen Versuchen verschiedene Fragen gestellt worden, und zwar etwas mutig, die notwendigerweise später bei den Haupt- und Nachversuchen gelöst werden müssen.

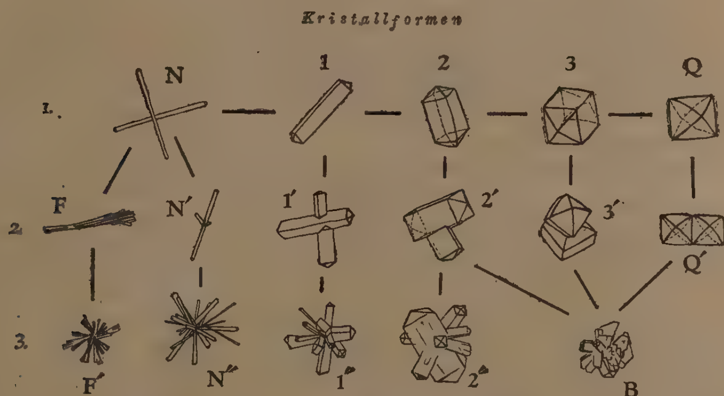


Fig. 4. Einteilung der Kristallformen des im Nährboden entstandenen Kalkoxalat-Trihydrates (Tetragonal-System).
1. Reihe. Einzelkristalle (Form N–1–2–3–Q).
2. Reihe. Kreuze, Zwillinge und einfache Büschel (Form F–N′–1′–2′–3′–Q′).
3. Reihe. Ausstrahlende Formen (Form F′–N″–1″–2″–B).

Die Bedingungen zur Bildung dieser verschiedenen Kristallformen bei einunddemse ben Kristallsystem sind noch nicht näher untersucht worden, nur dass z. B. beim Schnee dessen Kristallformen von den Umgebungsbedingungen, wie Übersättigungsgrad des Wassers, Temperatur usw., abhängig sind (NAKAYA), bzw. dass eine Hemmung der Kristallbildung z. B. im kolloidalen Medium die Sphäritbildung beim Kalkkarbonat begünstigt u. dgl. (FREY-WYSSLING). FREY-WYSSLING's umfassende Arbeit über Kalkoxalat-Kristallbildung bezieht sich aber leider nur auf Bedingungsunterschiede zwischen Mono- und Trihydratbildung.

A. Methode

(1) Pilzstämme. Von den in Tab. I angegebenen 9 Stämmen wurden hier die 8 vorstehenden gebraucht.

(2) Nährböden. Die gebrauchten 10 Nährböden wurden zusammen mit denjenigen der Hauptversuche in der Anhangstabelle zusammengestellt (S. 459 ff.).

(3) Kulturverfahren. Aus der Stammkultur auf Sojasauce-Agar wurden ca. 5×5 mm (beim Hauptversuch ca. 1,5×1,5 mm) grosse Impfstücke, die hauptsächlich aus Rhizomorpha bzw. Braunhaut bestanden, herausgenommen und auf die meist frisch hergestellten Agar-Nährböden in Reagensgläsern von ca. 1,8 cm Durchmesser geimpft.[1]

(1) Nur Nährboden 55 (Sojasauce-Agar) wurde ca. 7 Monate früher hergestellt.

TABELLE I. Pilzstämme.
(Näheres vgl. HAMADA 1939, Tab. V).

	Kultur-Nummer
Symbionten von *Galeola septentrionalis*	
1. Stamm aus Kuramayama bei Kyoto	1 (g)
2. Stamm aus der Provinz Iwate	11 (g')
3. Stamm aus Kibuneyama bei Kyoto	101 (g'')
Armillaria mellea	
4. Stamm aus Daimonjiyama bei Kyoto (*Quercus*)	15
5. Stamm aus Sugitoge bei Kyoto (*Cryptomeria*)	90
6. Stamm aus Kibune bei Kyoto (*Cryptomeria*)	92
7. Stamm aus der Provinz Nagano (*Pinus*)	105
8. Stamm aus Korea (leuchtendes Laubholz)	94
Symbiont von *Gastrodia elata*	
9. Stamm aus Yosiminedera bei Kyoto	115 (Gst)

Kulturbeginn am 9. November 1937; Temperature ca. 24°C (im Dunkeln). Alle Merkmale wurden empirisch mit den Graden 0, 1, 2, ...6 (zuweilen ½ etc.) am 6. Dezember 1937, also nach 4-wöchiger Kulturdauer, notiert.

Mittels dieser Grade wurde bei den 3 Wachstumsreaktionen die Massenzunahme in den betreffenden Kulturgläsern gemessen, bei der Bräunung der Nährböden deren durchschnittliche Schwärzungsgrade in den Agarteilen, wo das Myzel gewachsen ist (Grad O: weiss, 6: schwarz), und bei der Kristallbildung die Dichtigkeit der Kriställchen in den Nährböden bzw. auf dem Luftmyzel. Bei letzterem Merkmal wurden 4 kleine Stückchen Agar aus der Oberfläche desselben herausgenommen, unter Deckglas zerquetscht und dann mikroskopisch durchsucht (Einschliessung: Glyzerin mit Zusatz von ein bisschen Phenol). Betreffs des Leuchtens wurde nicht das Areal der leuchtenden Flecke, sondern der Leuchtgrad (0—6) des am stärksten leuchtenden Punktes jeder Kultur bei einer Temperatur von ca. 10—15°C gemessen, nachdem sich das Auge über 20 Minuten gut an die Dunkelkammer gewöhnt hatte, und zwar vom Beginn der Kultur dreimal mit je 9 Tagen Abstand; dann wurden die Mittelwerte aus diesen 3 Messungen genommen. Die Abschätzungsgrade entsprechen also bei den 3 Wachstumsreaktionen denjenigen der „Gesamtmenge" jeder Eigenschaft, während sie bei der Bräunung, Kristallbildung und dem Leuchten fast unabhängig von der Menge des gebildeten Myzels sind und somit eine „Entstehungsdichtigkeit" jeder Eigenschaft aufweisen. Die Resultate bei jeder Nährbodenart (Mittelwert aus je 2 Reagensgläsern jedes Stammes) sind in Tab. III angegeben.

B. Ergebnisse

(1) Kulturelle Unterschiede jeder Reaktion auf den verschiedenen Nährböden (Tab. III und IV)

Die gebrauchten Nährböden lassen sich nach der Natur und Zusammensetzung der Nährstoffe folgendermassen einteilen (Tab. II):

TABELLE II. Einteilung der Nährböden beim Orientierungsversuch (vgl. Anhangstabelle).

1. Dekokt-Böden.

55[1] (S)	Sojasauce+Zwiebeldekokt, Glukose 2,5 % (kein Salz-Zusatz).
67 (SII)	,, ,, , Glukose 2,5 %
68 (SI)	,, ,, , Glukose 1,5 %
70 (KI)	Kartoffeldekokt, Glukose 1,5 %

(1) Nummern meiner Nährböden.

2. Stärke (bzw. Glukose)-Pepton-Böden.
   - 61 .... Stärke 1,5 %, Pepton 1,5 %
   - 63 .... Glukose 1,5 %, Pepton 1,5 %
   - 66 .... Stärke 1,5 %, Pepton 0,6 %
3. Kohlehydrate- oder Pepton-Böden (alleinig).
   - *62* .... Stärke 1,5 %
   - *64* .... Glukose 1,5 %
   - *65* .... Pepton 1,5 %

Weil auf allen Nährböden die gebrauchten Pilzstämme gleichsinnig reagierten, nahm ich die Mittelwerte aus 8 Stämmen. So erhalten wir die Tab. III.

Tabelle III. Eignung der Nährböden für verschiedene Reaktionen (Mittelwert aus ganzen Stämmen).

a. Rhizomorphabildung.
   Nährböden Nr. 67>68>70>55>63>66>61>*62*>*64*>*65*

b. Braunhautbildung.
   Nährböden Nr. 67>68>63>70>55>66>*62*>61, *64*, *65*

c. Luftmyzelbildung,
   Nährböden Nr. 55>68>67, 63>66>70>*62*>61>*64*>*65*

d. Leuchten.
   Nährböden Nr. 63>61>66>70>68>67>55>*62*>*65*>*64*

e. Bräunung von Nährböden.
   Nährböden Nr. 63>61>66>*65*>70>*62*>*64* (55[1], 67[1], 68[1])

f. Kalkoxalatkristallbildung.
   Nährböden Nr. 61>63>66>70>*65*>68>55>67>*62*, *64*

Aus der Tab. III kann man leicht ersehen, dass die Massenzunahme der Pilze (Rhizomorpha-, Braunhaut- und Luftmyzelbildung) durch Dekokt-Böden (Nährböden 55, 67, 68 und 70) deutlich begünstigt wird, während die Ausscheidungsreaktionen (Leuchten, Bräunung und Kalkoxalatbildung) durch synthetische Kohlehydrat-Pepton-Böden (Nährböden 61, 63 und 66) stark befördert werden. Die Nährböden 62, 64 und 65, welche ausschliesslich nur Kohlehydrate oder Pepton enthalten, sind aber sehr schlecht für beiderlei Tätigkeiten, ausser dass bei der Bräunung und der Kristallbildung der Nährboden 65 (Pepton) etwa die Mittelstelle einnimmt, was darauf hindeuten muss, dass diese zwei Reaktionen, besonders die Bräunung, das Pepton sehr stark bevorzugen. Nähere Verhältnisse sind aus Tab. IV ersichtlich:

---

(1) Die braune Färbung, die durch Zusatz der Sojasauce hervorgerufen wird, pflegt während der Kultur sogar zu verbleichen und gelbweisslich zu werden.

Die obige Reihenfolge (a–f) war bei den *Armillaria*-Stämmen und den *Galeola*-Symbionten auch fast dieselbe.

I. Kolumne der Tabelle: *Vergleichsdaten von Stärke 1,5%* (*Nährboden 61*) *und Glukose 1,5%* (*Nährboden 63*) *bei gleichem Pepton-Zusatz* (*1,5%*). Alle Wachstums- und Ausscheidungsreaktionen, mit Ausnahme von Kristallbildung, werden durch Glukose befördert. Es steht aber noch dahin, ob das Leuchten und die Bräunung unmittelbar durch Glukose oder sekundär durch Myzelienzunahme beeinflusst worden sind.

TABELLE IV. Die Verschiedenheit der 6 Reaktionen in Bezug auf die Nährböden.

	Vergleichsnummer:	I		II		III		IV		V		VI		VII	
	Nr. der Nährböden:	61	63	61	66	70	67, 68	63	67, 68	*65*	*64*	68	67	63	70
Wachstums-reaktionen	Rhizomorphabildung		◎		○		◎		◎		○		○		○
	Braunhautbildung		◎		◎		◎		◎		◎		○*	○*	
	Luftmyzelbildung		◎		◎		◎		◎		◎	○*		○	
Ausscheidungs-reaktionen	Leuchten		○	○		○*		◎		○*		○		◎	
	Bräunung von Nährböden		◎	◎		?		◎		◎		?		◎	
	Kalkoxalatkristall-bildung	◎		◎		○*		◎		◎		○		◎	

○ : Die Wirkung ist gut.
○* : Die Wirkung ist etwas weniger gut.
◎ : Die Wirkung ist sehr gut.
I : Vergleich von Stärke (61) mit Glukose (63) beim Pepton konstant.
II : Vergleich von 1,5%igem Pepton (61) mit 0,6%igem Pepton (66) bei Stärke konstant.
III : Vergleich von Kartoffeldekokt (70) mit Sojasauce+Zwiebeldekokt (67, 68).
IV : Vergleich von synthetischem Boden (63) mit Dekokt Böden (67, 68).
V : Vergleich von Pepton (*65*) mit Glukose (*64*).
VI : Vergleich von 1,5%iger Glukose (68) mit 2,5%iger Glukose (67) bei Sojasauce-Agar.
VII : Vergleich von synthetischem Boden (63) mit Kartoffel-Agar (70).

Die dicke Linie in der Tabelle stellt die Umkehrung der Vergleichsresultate dar.

II. Kolumne: *Vergleichsdaten von 1,5%igem Pepton* (*Nährboden 61*) *und 0,6%igem Pepton* (*Nährboden 66*) *bei gleichem Stärke-Zusatz.* Hier (und auch bei Kolumnen III/V) sind die Auf- resp. Abbaurektionen durch Nährböden entscheidend beeinflusst worden: Die ersteren bevorzugen einen geringen

Pepton-Zusatz (Nährboden 66), die letzteren dagegen einen grösseren (1,5%). Ohne Pepton-Zusatz (Nährboden 62, vgl. Tab. III) zeigt aber die Kultur ein äusserst reduziertes Wachstum. Daraus und dem Obengesagten würde eine Frage offen gelassen, ob nicht beim Wachstum das Verhältnis N:C eine hervorragende Rolle spielt, wie dies allgemein der Fall ist. Die Frage wird später beantwortet werden.

III. Kolumne: *Vergleichsdaten von Kartoffeldekokt (Nährboden 70) und Sojasauce-Agar (Nährböden 67 und 68)*. Für das Wachstum ist das Sojasauce-Agar gegenüber dem Kartoffel-Agar besonders geeignet, während für die ausscheidenden Reaktionen die beiden keinen nennenswerten Unterschied aufweisen.

IV. Kolumne: *Vergleichsdaten von synthetischem Nährboden 63 (Glukose plus Pepton) und den Dekoktböden Sojasauceagar (Nährböden 67 und 68)*. Der erstere wirkt auf die Ausscheidungsreaktionen, und die letzteren wirken auf die Massenzunahme des Pilzes fördernd ein. Die Ergebnisse sind so entscheidend, dass es einer besonderen Erklärung nicht mehr bedarf.

V. Kolumne: *Vergleichsdaten von Pepton (Nährboden 65) resp. Glukose allein (Nährboden 64)*. Hier kann man auch ähnliche Züge erkennen, wie oben oft betont wurde. Dass die Massenzunahme beim Pepton allein (Nährboden 65) sehr schlecht oder gleich null ist (vgl. Tab. III), scheint mir darauf hinzuweisen, dass das Pepton als C-Quelle für *Armillaria mellea* keine Rolle spielt. Die etwas aufgetretene Myzelbildung scheint eher den mit dem Impfstück in den Nährboden eingeführten Kohlehydraten zuzuschreiben zu sein. Beim Glukose-Boden 64 ist das Wachstum weniger schlecht als beim Pepton allein. Ob dies z.B. auf etwaiger Assimilation der anorganischen Stickstoffe (Ammonium bzw. Nitrat) beruht, oder ob diesmal die mit dem Impfstück eingeführte Menge von organischen Stickstoffverbindungen schon ausreichend war, ist jetzt nicht zu sagen. Durch weiteren Zusatz von Ammonium bzw. Nitrat zu dem Boden würde man über diese Fragen vielleicht einen sicheren Aufschluss bekommen können.

VI. Kolumne: *Vergleichsdaten von 1,5%iger (Nährboden 68) und 2,5%iger Glukose (Nährboden 67) bei Sojasauce-Agar*. Die Unterschiede dieser beiden Nährböden auf das Verhalten des Pilzes sind gering, was darauf hindeutet, dass bei Sojasauce-Agar der weitere Zusatz von Glukose über 1,5% für die Thallusbildung schon überflüssig ist und auf die Luftmyzelbildung, wie auch auf die Ausscheidungsreaktionen eher hemmend einwirkt. Hier ist also die Luftmyzelbildung von den übrigen Wachstumsreaktionen zu trennen. Wie weit dies aber Gültigkeit hat, muss noch näher untersucht werden.

VII. Kolumne: *Vergleichsdaten von einem jetzt fast ideal synthe-*

sierten Boden 63 (Glukose plus Pepton) und dem Kartoffel-Agar (70). Durch diesen Versuch erkennt man deutlich, dass Kartoffelagar nie der beste Nährboden sein kann und für die Bildungsvermögen von Braunhaut und Luftmyzel unter Umständen sogar dem synthetischen Boden nachsteht.

Vergleichsversuch des getrockneten Boden (55) [1] *und der frischen, nassen Böden (67 und 68) bei Sojasauce-Agar.* Aus Tab. III kann man ersehen, dass die Rhizomorpha- und Braunhautbildung die frischen Böden bevorzugt, die Luftmyzelbildung dagegen den getrockneten Boden (55). Dies beruht vielleicht auf einer mechanischen Wirkung des letzteren, weil der getrocknete Agarboden gegen das Eindringen der Hyphen einen starken Widerstand ausübt.

Überblickt man die Vergleichsversuche dieses Abschnittes (Tab. III und IV), so kann man sagen, dass die genannten 6 Wachstums- und Ausscheidungsreaktionen nicht immer ein übereinstimmendes Verhalten gegen die 10 gebrauchten Nährböden aufweisen (Kolumne I, VI und VII) und dass das Pepton für die Nährbodenbräunung und Kalkoxalatbildung eine hervorragende Rolle spielt (Kolumne II und V).

(2) Kristallbildung und Kristallformen (Tab. V)

Wie oben gezeigt (Tab. III), ist eine reichlichere Kristallbildung fast nur auf diejenigen Nährböden beschränkt, die Kohlehydrate (Stärke bzw. Glukose) mitsamt Pepton enthalten. Sie lassen sich den gebildeten Kristallmengen nach wie folgt anreihen:

Nährboden 61 (Stärke 1,5%, Pepton ,,) > Nährboden 63 (Glukose 1,5%, Pepton ,,) > Nährboden 66 (Stärke 1,5%, Pepton 0,6%)

Bei den Dekokt-Böden, welche vielleicht verschiedene organische Stickstoffverbindungen enthalten (s. Anm. 1 und 3, S. 417 und Anhangstabelle) und beim Pepton-Boden (65) ist die Kristallbildung, wenn nicht ganz frei, stark reduziert, während sie bei Stärke- (62) oder Glukose-Boden (64) vollständig ausfällt. Dies war ebenfalls entweder bei den „Böden-" oder den „Lufthyphekristallen" der Fall. Die Menge des dargebotenen Peptons bzw. das N:C Verhältnis ist also für die sezernierende Menge von Oxalsäure entscheidend.

Die Beziehung zwischen Mengen und Formen der gebildeten Kristalle. Die Formen der gebildeten Bodenkristalle sind in Tab. V gegeben. Man sieht, dass bei den zur Kristallbildung stark geneigten drei Nährböden Nr. 61, 63 und 66 eine prismierte Form 1 überwiegt (s. letzte Kolumne der Tab. V). Als die nächst häufigste Form tritt bei Nährboden 61 die ziemlich stark pyramidale Form 3 auf, während diese bei Nährboden 63 durch Form 2, bei Nährboden 66 durch

(1) Infolge der langen Vorratsdauer (7 Monate) in der Dunkelkammer vor der Impfung war die Agarmasse des Bodens sehr vertrocknet und verschrumpft.

TABELLE V. Kristallformen in den Nährböden
(Die sehr gering auftretenden, beigemengten Formen wurden weggelassen).

	Stamm-Nr.:	*Galeola*-Symbionten			*Armillaria mellea*					ganze Stämme
		1 (g)	11(g′)	101(g″)	15	90	92	105	94	
61	Stärke+Pepton	1,(N)	1	2,1,N	1,3	1	2,3	2,3,Q	1,2,3	1>3>2
63	Glukose+ Pepten	1,N,(2)	1,2,N	N,2	1,2, N,3	—	1,2	1,2,3	2,N–1 1–2	1>2>N
66	Stärke+ Pepton (0,6%)	N–1,F	F–N	1,2 N–1	F,2	1,Q	F,1–2	2,N	F-1,1	1>F>N>2
70	Kartoffeldekokt	—	—	1*–2*	1*,F*	1–F	1–F,3*	1*,2*	2*	1>F
65	Pepton	—	—	—	Q	—	3–Q	2*	2*,Q*	Q>2
68	Sojasauce+ Zwiebeldekokt	—	1*	*	2*,1′*	1*,2*	2*	1*,2*,Q*	—	
55	„ „	—	3	*	—	*	2*	2*,Q*	Q*	
67	„ „	—	—	*	—	—	—	1*,2*	—	
62	Stärke	—	—	—	—	—	—	—	—	
64	Glukose	—	—	—	—	—	—	—	—	

, 1, 2* usw. sehr kleine Formen (sandig). Kristall-Formen vgl. Fig. 4.
Die Nährböden sind von oben nach unten der Reichlichkeit ihrer Kristallmenge nach angeordnet (vgl. Tab. III f.).

Form F vertreten wird. Die Form F gehört allerdings zur hoch prismierten, nämlich einem Büschel von Form N. Die Kristallformen scheinen also unter der Herrschaft der gebildeten Menge desselben zu stehen, nämlich insofern, als eine grössere Menge auf das Pyramidenwachstum gut und eine geringere auf dasselbe schlecht einwirkt. Dies trifft auch beim Nährboden 70 (Kartoffel-Agar) zu, der die vierte Klasse bezüglich der Kristallmenge einnimmt und bei dem die Formen 1 oder F überwiegen.

Beim Pepton-Boden (65), wo nur eine sehr geringe Menge von Kristallen gebildet wird, ist dagegen ihre Form, nämlich die Form Q, am pyramidalsten unter allen Nährböden.

Wie kann man die Widersinnigkeit der oben angeführten zwei Tatsachen richtig erfassen? Die hier auftauchenden Fragen, ob nicht auch bei den Kristallformen das N:C Verhältnis (wie bei den Wachstumsreaktionen etc. s. S. 401), eine grosse Rolle spielt, und welche Wirkung auch die „stämmliche Differenz“ hat, werden unten bei den Hauptversuchen klar gestellt werden.

V. Hauptversuche

A. Methode

Um das Verhalten des Pilzes bei der Kultur näher zu studieren, und zwar in den eben gesagten Richtungen, wurden hier 56 Kombinationen von Nährstoffarten, die sich

in 6 Reihen einteilen lassen, mit 9 Pilzstämmen geprüft. Die Zusammensetzung der Nährböden ist wie folgt (Näheres s. Anhangstabelle):

1) Nährböden Nr. 74: Glukose-Pepton-Reihe (36 Kombinationen), bei denen das Prozent der zugesetzten Menge Glukose bzw. Pepton je in 6 Grade (0, 0,5, 1, 2, 4 und 8%) gestuft wurde (Zeichen: bei Glukose O—V; bei Pepton (o)—(5)), damit ein gleiches N:C Verhältnis bei den verschiedenen Glukosemengen erhalten wird (je 3 Reagensgläser für I—V und (1)—(5); je 2 für 0 und (o) Böden).
2) Nährböden Nr. 75 und 76: pH-Reihe (5 Arten: pH=4,3, 5,0, 6,1, 8,0 (je 1 Reagensglas) und pH=5,0 mit 4,5%-igem Agar (Zeichen: 5,0′, 3 Reagensgläser)).
3) Nährböden Nr. 79: Sojasauceagar-Reihe (4 Arten mit Pepton- und Hefe-Zusatz, je 1 Reagensglas).
4) Nährböden Nr. 80: Kartoffelagar-Reihe (2 Arten mit Petpon-Zusatz, je 1 Reagensglas).
5) Nährböden Nr. 77, 78 und 81: Asparagin-, Glyzerin- und Mannit-Boden (3 Arten, je 1 Reagensglas)
6) Nährböden Nr. 82/87: Salz-Reihe (6 Arten mit Zusatz oder unter Beseitigung verschiedener Salze, je 1 Reagensglas).

Auf diese, insgesamt 1071 Reagensgläser Agar-Nährböden, welche in der Zeit von 14. bis 28. Feb. 1938 angefertigt wurden, impfte ich vom 5. bis 9. März desselben Jahres die 9 Stämme (einschl. *Gastrodia*-Symbiont) aus den Stamm-Kulturen auf Kartoffel-, Honig-Hefe[1] bzw. Hefe-Agar-boden[1]. Die Impfstücke betrugen, wie erwähnt, in diesem Falle nur ca. 1,5×1,5 mm (Dicke: weniger als 1 mm). Die Kulturen wurden im Inkubator oder in der Dunkelkammer von ca. 23/25°C aufbewahrt[2]. Die

---

(1) Zusammensetzung:

	Honig-Hefe-Agar (Nährboden 72)	Hefe-Agar (29)
$Ca(NO_3)_2$	1,00 gr	1,00 gr
KH_2PO_4	0,125	
K_2HPO_4	,,	0,25
$MgSO_4$ $7H_2O$	0,50	0,25
Fe_2Cl_6	Spur	0,01
$(NH_4)_2SO_4$	0,50	0,50
dest. Wasser	1000,	1000,
Glukose (MERCK)		10,
Saccharose (MERCK)		5,
Honig (frisch)	20,	
getrocknete Bierhefe (alt)	5,	10,
Agaragar	17,	17,
pH: vor der Sterilisierung (kontrolliert durch HCl)	5,2	5,3
nach der Sterilisierung (3 Mal auf 100°C)	5,0	5,2

Auf diesen Agar-Böden wurde eine besonders schöne Braunhaut gebildet (siehe Fig. 11), die für die Impfung am zweckdienlichsten war.

(2) Nährboden 0(4) beim Stamm *Armillaria mellea* Nr. 15, 90 und 92; Nährböden 0(4) und II(3) beim Stamm *Armillaria mellea* Nr. 105 konnten wegen Nichtentwicklung des Impfstücks bzw. wegen sonstiger Misstände nicht geprüft werden (Nährböden vgl. Anhangstabelle, Stämme vgl. Tab. I).

Erscheinungsgrade der meisten Merkmale wurden zwischen dem 1./4. April 1938 bestimmt; beim Leuchten: 1. Mal in der Zeit vom 14./18. März, 2. Mal vom 23./27. März und 3. Mal vom 1./4. April, stets in der Dunkelkammer von ca. 23/24°C; beim Kalkoxalatkristall wurden vom 12./19. April 4 kleine Agar-Stückchen aus jedem Reagensglas herausgenommen, mit Phenol-Glyzerin eingeschlossen und mikroskopisch durchsucht.

Hier wurden 11 Kategorien von Merkmalen in Betracht gezogen, nämlich Rhizomorphabildung, deren Form und Farbe, Braunhautbildung, Luftmyzelbildung; Leuchten, Bräunung der Nährböden, Guttation und deren Farbe, Kalkoxalatkristalle und deren Formen. Die Bestimmungsweise der Erscheinungsgrade war dieselbe wie beim Orientierungsversuch, nur dass bei der Guttation, die dort nicht berücksichtigt worden war, die Dichtigkeit der Guttationstropfen auf dem gewachsenen Luftmyzelrasen, unter Berückschtigung ihrer Grösse, durch die Grade 0—6 bestimmt wurde. Die Bezeichnungsweisen der übrigen Merkmale wie Form und Farbe der Rhizomorpha werden später auf S. 419 und ff. gegeben.

B. Die Glukose-Pepton-Reihe

Obgleich diese Reihe von Nährböden mit der Absicht hergestellt wurde, zu prüfen, wie das Verhältnis N:C[1] auf die genannten 11 Merkmale einzuwirken vermag, wäre es doch berechtigt, zuerst mit dem Versuch zu beginnen, inwiefern die Tätigkeiten des Pilzes von den N- und C-Gaben abhängen (N- und C-Kurven in Fig. 6a-g), und danach das N:C Verhältnis zu berücksichtigen (Fig. 7). Was die Formen von Rhizomorpha, Farben von derselben sowie Guttation und Kristallformen anbelangt, so möchten wir auf dieselben später zusammen mit den Ergebnissen anderer Reihen zurückkommen.

1. N- und C-Kurven

(1) Rhizomorphabildung (Fig. 6a)

Bei den Nährböden der Glukose-Pepton-Reihe ist die Rhizomorphabildung schwächer. Die Ursache hierfür scheint auf einem Wuchsstoffmangel zu beruhen (vgl. S. 441 ff.).

Bei der niedrigen C-Gabe (s. Fig. 6a oben) fällt das Maximum auch auf niedriger N-Gabe (Abszisse) aus und ihr Maximumwert ist auch niedriger. So liegt z. B. bei 0,5%iger Glukose das Maximum der Kurve auf ca. 0,5%igem Pepton und bei 8%igem Zusatz der ersteren das Maximum auf ca. 2,0%igem Pepton. Jedenfalls ist der N-Wert für die maximale Rhizomorphabildung weit geringer als der C-Wert, sodass die N-Kurven als Ganzes nach rechts langsam abfallen. 0% Glukose weist

(1) N:C bedeutet hier wie auch später stets das Verhältnis von Pepton (TERAUCHI's aus Kaseïn) zu den Kohlehydraten. Das hier in Verwendung gebrachte Pepton enthält nach der Angabe vom Hersteller GOTO-Fuundo, Tokyo ca. 15% N. Das Verhältnis von Stickstoff zu Kohlenstoff lässt sich daraus sofort umrechnen. Es sei aber bemerkt, dass das „Pepton" bei den gegebenen Bedingungen nicht als C-Quelle verbraucht wird, ausgenommen von etwaigen Verunreinigungen in demselben.

nun fast keine Rhizomorphabildung entlang der ganzen N-Bereiche auf. Bei den C-Kurven ist also die Neigung ganz umgekehrt mit Ausnahme von 0 bis 1,0% Pepton (Fig. 6a unten). Die Tendenz lässt sich auch aus den photographischen Abbildungen (Tafel IX) klar erkennen. Das N:C Verhältnis ist also entscheidend für die Rhizomorphabildung.

(2) Braunhautbildung (Fig. 6b)

Die allgemeine Tendenz der N- und C-Kurven in Bezug auf die C- und N-Dosen stimmt, wenngleich etwas irregulär,(1) mit der der Rhizomorphabildung fast überein. Die Braunhautbildung wird aber bei höheren N-Gaben (4 und 8%) stärker gehemmt als die Rhizomorphabildung, während sie ohne Zusatz von Pepton mehr gefördert wird als die letztere.

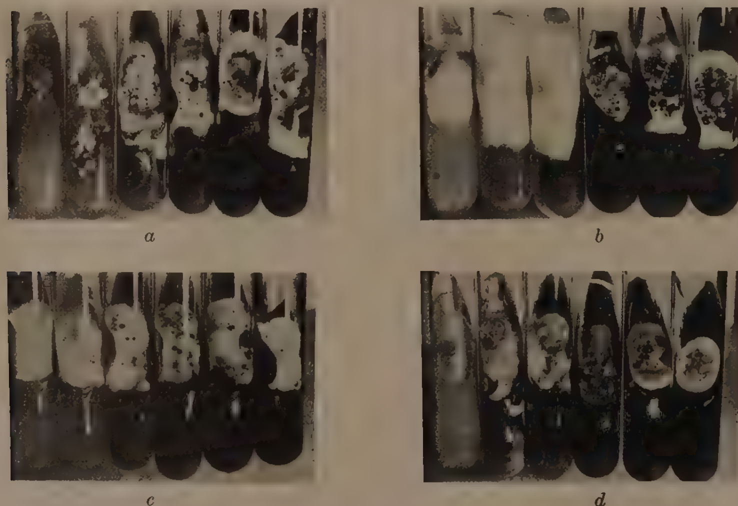


Fig. 5. Luftmyzelbildung, Guttation und Bräunung von Nährböden auf Nährböden-III (Glukose = 2%) aus der Glukose-Pepton-Reihe (Pepton-Zusatz von links nach rechts: 0, 0,5, 1, 2, 4 und 8%).
a. Stamm *Galeola*-Symbiont Nr. 1.
b. Stamm *Galeola*-Symbiont Nr. 11.
c. Stamm *Armillaria mellea* Nr. 15.
d. Stamm *Armillaria mellea* Nr. 92 (vgl. Tab. I).
(Kultur 5./9. März 1938, ca. 24°C; Photo 8. April 1938; × ca. 4/9).

(1) Die Irregularität der Kurven scheint mir darauf zu beruhen, dass in gewissen Fällen die Luftmyzelbildung auf der Oberfläche der Braunhaut so üppig ist, dass man bei der Abschätzung oft auf grössere Schwierigkeiten stösst.

(3) Luftmyzelbildung (Fig. 6c)

Bei der Luftmyzelbildung verhalten sich die N- und C-Kurven fast übereinstimmend. Die Kurven steigen zuerst rascher auf, dann aber laufen sie etwa parallel zur Horizontalachse mit oder ohne Maxima. Der scharfe Knick der Kurven liegt, entweder bei den N- oder bei den C-Dosen, meist auf ca. 0,5-%. Die Höhe der Kurven ist bei mehr als 1% Zusatz nicht sehr verschieden, während bei 0% die Luftmyzelbildung stark gehemmt wird. Die maximale Ausbeute fällt bei der N-Gabe auf 2% und bei der C-Gabe auf 4%, wenngleich der Unterschied gegenüber den anderen Dosen nur geringfügig ist. Für die Rhizomorpha- und Braunhautbildung wirkte 8%iger N-Zusatz sowie 0%iger stark hemmend, was im Gegensatz zu dem Verhalten der Luftmyzelbildung steht.

(4) Leuchten (Fig. 6d)

Die Kurven zeigen, wenngleich nicht ganz regulär, ein Maximum bei schwacher Dosis. So tritt das Maximum der N-Kurven um N=1~4%, und das der C-Kurven um C=1% auf und mit steigender Dosis nimmt das Leuchten langsam ab. Die grösste Höhe erreichen die N-Kurven bei C = 1% und die C-Kurven bei N = 1 bis 2%. Noch stärkere Dosen weisen vielmehr ein schlechtes Leuchten auf.

(5) Bräunung der Nährböden (Fig. 6e)

Auf die Bräunung des Nährbodens wirken Pepton und Glukose in ganz verschiedener Weise. Die N-Kurven steigen mit zunehmender Peptondose etwa exponential auf. Die optimale C-Dose liegt dabei auf 1 bis 2%; noch stärkere Dosen wirken immer hemmend, sodass die Bräunung bei 8% etwa die Mittelstelle zwischen 0,5 und 0% einnimmt. Die C-Kurven steigen daher zuerst rascher auf und nach Erreichen der Maxima um ca. 0,5% der C-Gabe fallen sie wieder langsam ab. Die Höhe der C-Kurven steigt mit zunehmender N-Dose.

(6) Guttation (Fig. 6f)

Wenngleich der Kurvenverlauf nicht ganz regulär ist, lässt er doch deutlich durchblicken, dass die Guttation betreffs der N- und C-Gabe eine Maximum-Kurve aufweist.[1] Es sei ferner bemerkt, dass sich die Guttation nicht auf die Menge der Myzelien, auf welchen sie stattfindet, bezieht. Jedenfalls wirkt, wie bei der Bräunung, 0% Glukose bzw. Pepton stark hemmend.

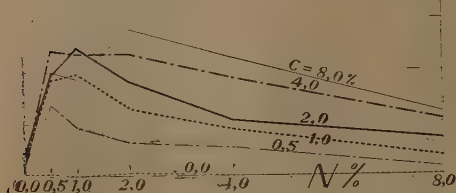
(7) Kalkoxalatkristallbildung (Fig. 6g)

Diese vollzieht sich entweder im Nährboden oder auf den Lufthyphen

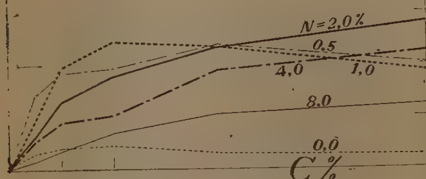
(1) Der Verlauf des linken Schenkels der Kurve beruht auf Mangel des dargebotenen Stoffes, während er bei dem rechten Schenkel vielleicht zum Teil auf dem osmotischen Verhältnis der Nährböden beruht.

a. Rhizomorpha

N-Kurve

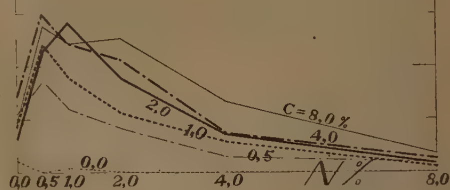


C-Kurve

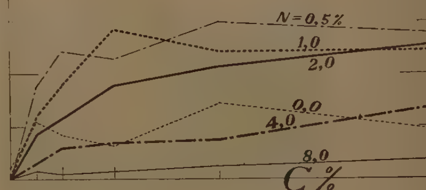


b. Braunhaut

N-Kurve

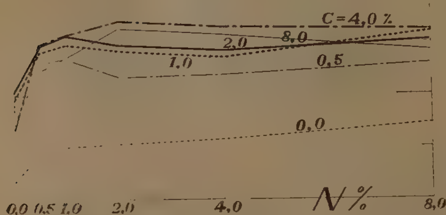


C-Kurve

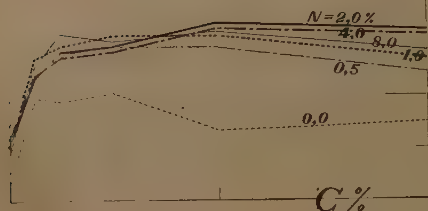


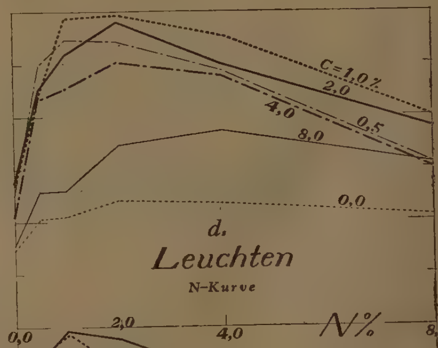
c. Luftmyzel

N-Kurve

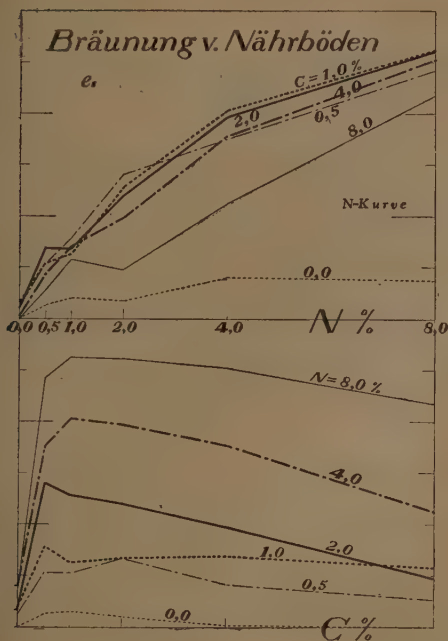


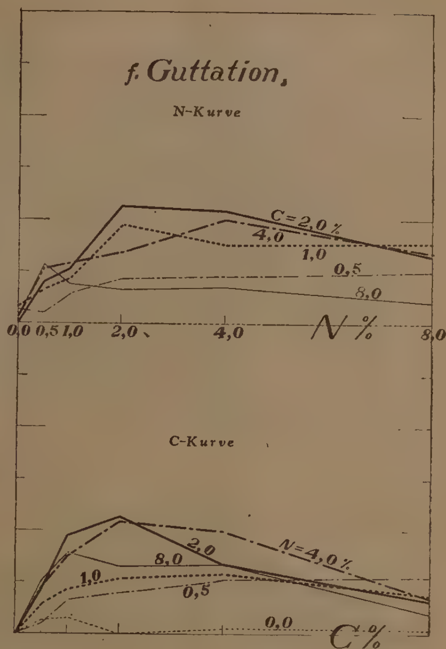
C-Kurve











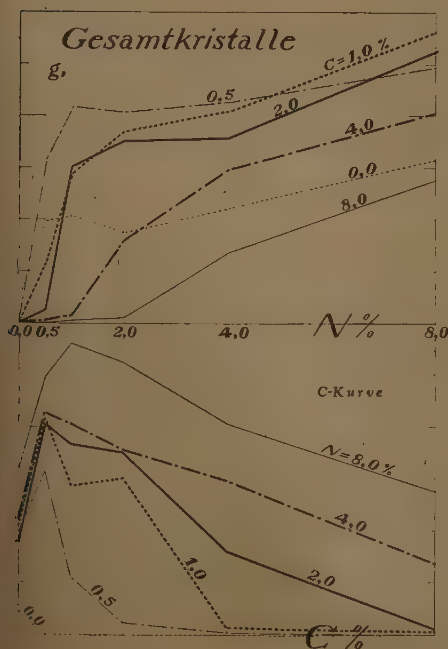


Fig. 6*a-g*. **Die Abhängigkeit der reagierenden Eigenschaften von verschiedenen N- und C-Dosen bei der Glukose-Pepton-Reihe (N- und C-Kurven).** Abszisse: Pepton (*N*) bzw. Glukose (*C*). Ordinate: Grade aller Reaktionen im Vergleichsmasstab von 0–6 (Mittelwerte* aus den gebrauchten 9 Pilzstämmen). Kultur ca. 4 Wochen.

* Mittelwerte bei den meisten Nährböden: aus 27 Kulturgläsern, bei den Nährböden *C* bzw. *N* = *0 %*: aus 18 Kulturgläsern.

selbst; in beiden Fällen aber zeigen sich fast gleiche Züge in Bezug auf die Entstehungsweise, sodass ich sie zusammen als „Gesamtkristalle" in Fig. 6g dargestellt habe.

Die Kristallbildung hängt, wie die N-Kurven es veranschaulichen, mit zunehmender N-Gabe im positiven Sinne eng zusammen; bei 8% N nimmt sie immer noch weiter zu, während sie ohne Zusatz von Pepton bis fast auf Null sinkt. Betreffs der C-Gabe ist aber das Verhältnis nahezu umgekehrt; nach plötzlichem Anstieg bei 0,5 bis 1% Dose fallen die Kurven je nach der N-Dose früher oder später ziemlich tief ab. Die maximale Bildung findet hier bei N = 8% und C = 1% statt. Jedenfalls steht die Kristallbildung, wie auch gewisse andere Reaktionen, mit dem N:C Verhältnis in einem engeren Zusammenhang, was noch näherer Betrachtung bedarf.

2. *N:C Verhältnis-Kurven*

(1) *Die Kristallbildung und Rhizomorphabildung* (Fig. 7 k und Rh)

Die früheren Erwartungen, dass die Rhizomorphabildung und die Kristallbildung von den N:C Verhältnissen abhängig sind, wurden hier völlig bestätigt. Die letztere Reaktion beginnt unabhängig von den absoluten C bzw. N. Mengen stets bei dem Verhältnis N:C = 1:4 (Fig. 7k), wo die Rhizomorphabildung ihr Maximum aufweist (Fig. 7 Rh).[1] Die Abweichungen der Kurven [z. B. oben rechts bei der Kristallbildung (k) und oben links bei der Rhizomorphabildung (Rh)] scheinen wir durch die Umstände erklären zu können, dass bei der Kristallbildung die Glukose- bzw. Ca-Menge in den Nährböden und bei der Rhizomorphabildung die Pepton-Menge als jeweilige Minimumfaktoren gewirkt haben.

(2) *Die Bräunung der Nährböden und die Braunhautbildung* (Fig. 7 b und B)

Die Bräunung der Nährböden steht mit dem N:C Verhältnis nur insofern in einem Zusammenhang, als dieselbe bei einem Verhältnis von weniger als 1:4 stark reduziert wird.[2] Dies Verhältnis stellt bei der Rhizomorpha- und Kristallbildung einen kritischen Punkt dar. Die zwei Ausscheidungen, die Kristallbildung (k) und die Bräunung (b), scheinen demnach, wenngleich sie dem Wesen nach ganz voneinander abweichen,

---

(1) Das Ergebnis wurde schon in meiner früheren Mitteilung (S. 201, Anm. 1) erörtert. Das etwaige Auftreten des Kristalls bei dem Verhältnis 1:4 und darunter ist wohl der Verunreinigung seitens des Impfstücks zuzuschreiben (eine andere Möglichkeit vgl. S. 438).

(2) Dies zeichnet sich bei Fig. 6e oben als ein zeitweiliges Absteigen etc. der Kurven aus (z. B. bei C=8,0%-Kurve zwischen N=1—2%).

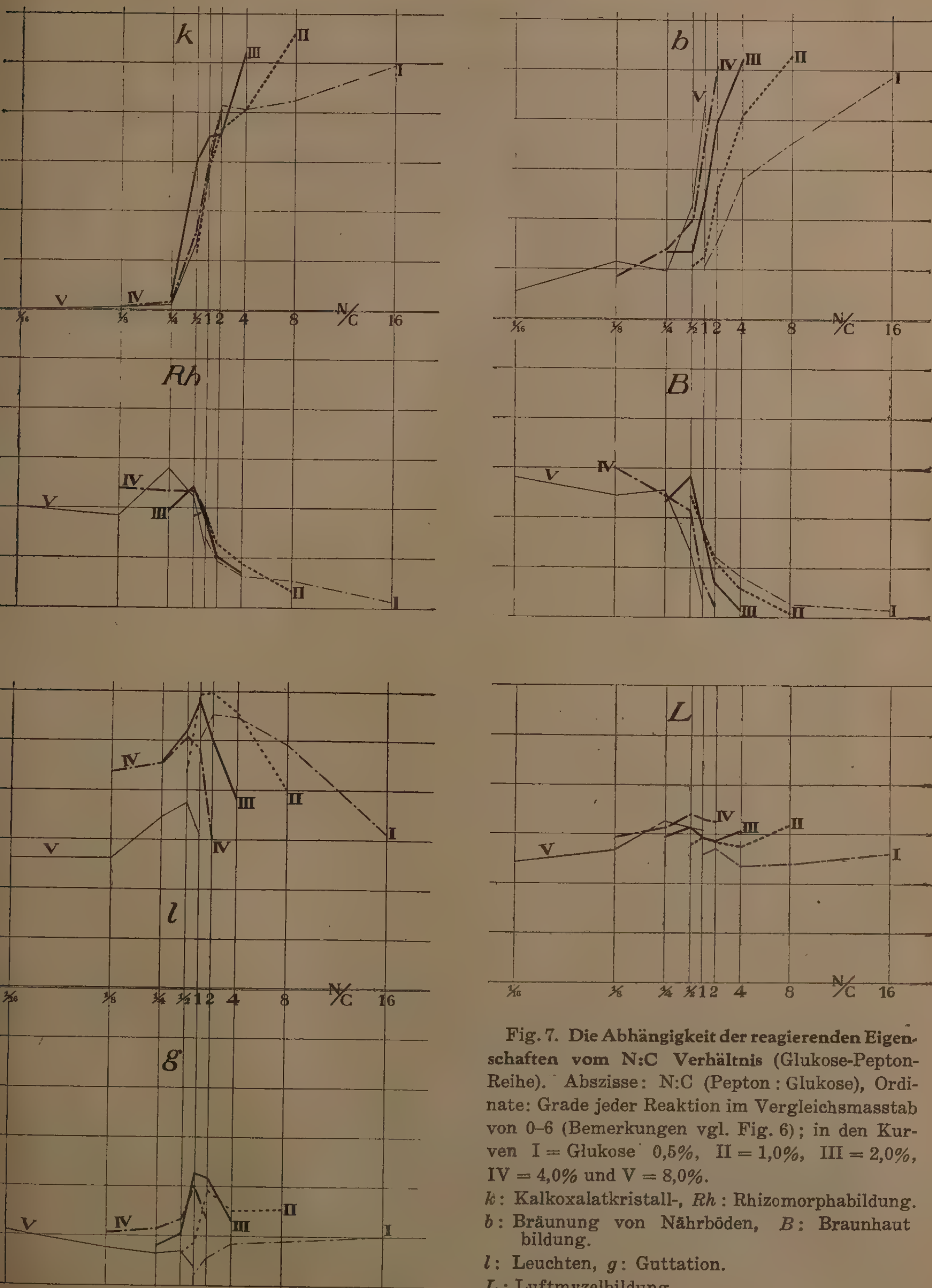


Fig. 7. **Die Abhängigkeit der reagierenden Eigenschaften vom N:C Verhältnis** (Glukose-Pepton-Reihe). Abszisse: N:C (Pepton : Glukose), Ordinate: Grade jeder Reaktion im Vergleichsmasstab von 0–6 (Bemerkungen vgl. Fig. 6); in den Kurven I = Glukose 0,5%, II = 1,0%, III = 2,0%, IV = 4,0% und V = 8,0%.

k: Kalkoxalatkristall-, *Rh*: Rhizomorphabildung.

b: Bräunung von Nährböden, *B*: Braunhautbildung.

l: Leuchten, *g*: Guttation.

L: Luftmyzelbildung.

erst dann stattzufinden bzw. dann üppig aufzutreten, wenn das Pepton für die Rhizomorphabildung überflüssig wird.

Die Braunhautbildung (B) stimmt in grossen Zügen mit der Rhizomorphabildung überein, da ihr Maxima unter ca. N:C = 1:4 ~ 1:2 liegt. Die Braunhautbildung erfährt aber bei grösseren N-Zusätzen eine weit stärkere Hemmung als die Rhizomorphabildung.

(3) *Das Leuchten und die Guttation* (Fig. 7 l und g)

Diese zwei Reaktionen zeigen ein ziemlich gemeinsames Verhalten, wie aus Fig. 7 l und g ersichtlich ist. Die meisten Kurven dieser beiden Erscheinungen weisen einen scharfen Gipfel um etwa N:C = 1:1 auf, dann fallen sie fast symmetrisch ab, mit Ausnahme der I- und V-Kurven der Guttation, die im Gegenteil dort stark hinabsinken. Man könnte allerdings behaupten, dass diese beiden Reaktionen in gewissem Sinne auch vom N:C Verhältnis abhängig sind.

(4) *Die Luftmyzelbildung* (Fig. 7 L)

Im Gegensatz zu den oben dargelegten Reaktionen zeigt die Luftmyzelbildung keine Abhängigkeit vom N:C Verhältnis, wie man es aus Fig. 7 L ersehen kann.

Die C:N Verhältnis-Kurven

Stellt man das Verhältnis N:C im umgekehrten Sinne, nämlich als C:N dar, so zeigen die Kurven diejenige Tendenz, wie wir sie von den N:C-Kurven erwarten, nämlich:

1) Das Leuchten und die Guttation verhalten sich bei beiden Verhältnis-Kurven, N:C und C:N, fast ganz gleich.
2) Bei der Rhizomorpha-, Braunhaut- und Kristallbildung zeigen die Kurven ähnliche Verhältnisse im umgekehrten Sinne.
3) Bei der Bräunung der Nährböden verhalten sich die Kurven zwar regelmässig, jedoch in ganz verschiedener Weise.
4) Bei der Luftmyzelbildung verhalten sich die Kurven wie bei den N:C-Kurven ganz irregulär.

3. *Übersicht über die Glukose-Pepton-Reihe (Tab. VI)*

Die Reaktionen des Pilzes gegenüber den N- und C-Dosen sowie dem N:C Verhältnis sind in Tabelle VI zusammengestellt.

Man kann daraus ersehen, dass alle Reaktionen in Bezug auf eine gegebene Bedingung stets mehr oder weniger voneinander abweichen. Die drei Wachstumsreaktionen stimmen aber insofern überein, als sie mit zunehmender C-Gabe, z. B. 8%, eine starke Beschleunigung erfahren, während alle Ausscheidungsreaktionen durch dieselbe gleichmässig gehemmt werden. Die N-Gabe beschleunigt immer die Bräunung sowie

TABELLE VI. Zusammenfassung der Ergebnisse der Glukose-Pepton-Reihe.

	N- und C-Kurven (Fig. 6 a-g)						Abhängigkeit von den N:C Verhältnissen (Fig. 7)
	Reaktionen				Aussehen der Kurven (Maxima usw.)		
	0 %		8 %				
	C	N	C	N	N-Kurve	C-Kurve	
Rhizomorpha-bildung	××	✕✕	◎	✕	Maxima-Verschiebung	bei höheren N-Zusätzen steigend	Maxima bei ca. 1:4
Braunhaut-bildung	××	**○**	◎	✕✕	Maxima bei ca. N=0,5~1,0 %	wie oben	wie oben
Luftmyzel-bildung	××*	✕✕*	◎*	**◎***	Stillstand bei N=0,5~1,0 %	Stillstand bei C=0,5~1,0 %	unabhängig vom N:C
Leuchten	××*	✕✕*	×	✕	Maxima-Verschiebung	irregulär ?	scharfe Maxima bei ca. N:C=1:1
Bräunung der Nährböden	××*	✕✕	×*	**◎**	immer steigend mit dem N %	etwas abfallend mit dem C %	unabhängig vom N:C
Guttation	××	✕✕	×	**○**	irregulär ?	irregulär ?	scharfe Maxima bei ca. N:C=1:1
Kalkoxalat-kristall-bildung	○	✕✕	×	**◎**	immer steigend	bei übermässigen C-Zusätzen abfallend	Bildungs-beginn bei ca. 1:4

× : hemmend, ×* : etwas weniger hemmend, ×× : stark hemmend, ××* : ziemlich stark hemmend; ○ : beschleunigend, ◎ : höchst beschleunigend, ◎* : ziemlich stark beschleunigend.

die Kristallbildung und hemmt dagegen die Rhizomorpha- und die Braunhautbildung wie auch das Leuchten mehr oder minder stark, während die Luftmyzelbildung und die Guttation weniger beeinflusst werden. Nach alldem scheinen unter den Wachstumsreaktionen die Luftmyzelbildung und unter den Ausscheidungsreaktionen das Leuchten und die Guttation in gewissem Grade eine Sonderstellung anzunehmen.

C. Sonstige Nährböden-Reihen (Fig. 8)

1. pH-Reihe

Die Zusammensetzung der Nährböden dieser Reihe ist dieselbe wie bei Stärke-Pepton-BII′-Boden, worauf ich früher eine gute Kristallbildung

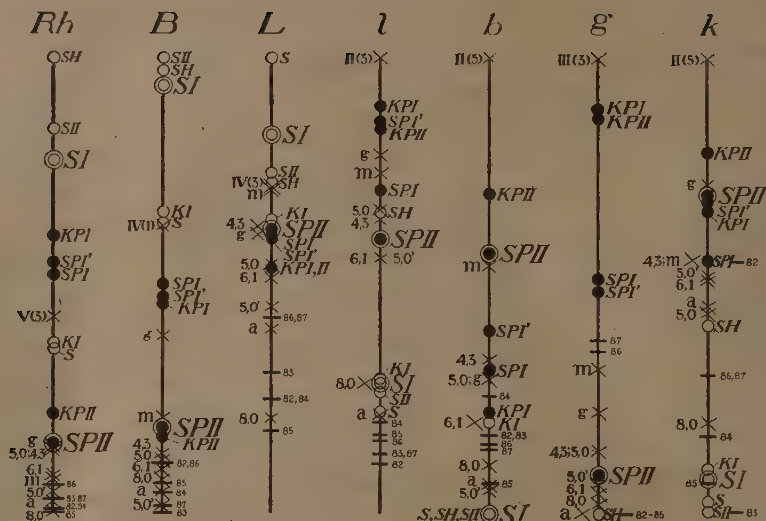


Fig. 8. **Übersicht aller Nährböden-Reihen in Bezug auf die Reaktionsgrade jeder Eigenschaft.**

Rh: Rhizomorpha-, *B*: Braunhaut-, *L*: Luftmyzelbildung.

l: Leuchten, *b*: Bräunung der Nährböden, *g*: Guttation, *k*: Kalkoxalatkristallbildung.

Zeichen:

○, ●: Sojasauce-Agar- (S) und Kartoffel-Agar-Reihe (K), und zwar

○: Ohne Pepton-Zusatz (SH: Sojasauce-Agar mit Hefe-Zusatz; SI (◎) und SII: Sojasauce-Agar (aus den Orientierungsversuchen) mit 1,5 bzw. 2,5 % Glukose, S: getrockneter Sojasauce-Agar-Boden; KI: Kartoffel-Agar-Boden (aus den Orientierungsversuchen) mit 1,5 % Glukose; übrige Zusammensetzung s. Anhangstabelle).

●: Mit Pepton-Zusatz (SPI und SPI′: Sojasauce-Agar mit 1,5 % Pepton; SPII (◉): dasselbe mit 4 % Pepton; KPI und KPII: Kartoffel-Agar-Böden mit 1,5 bzw. 4 % Pepton).

▬: Salzreihe (82: NH_4NO_3 1,5 %, 84: $(NH_4)_2SO_4$ 1,5 %, 85: KNO_3 1,5 %, 83: P-frei, 86: S-frei, 87: Mg-frei).

×: V(3) bei *Rh*, IV(1) bei *B*, etc. II 5) bei *k*: die besten Nährböden aus der Glukose-Pepton-Reihe für jede Reaktion.

4,3, 5,0, 5,0′, 6,1 und 8,0: pH-Reihe.

a, g und m: Asparagin-, Glyzerin- und Mannit-Boden.

Der günstigste Nährboden in Bezug auf jede Eigenschaft wurde immer gleich 100 gesetzt und am höchsten gestellt und die Schätzungswerte der übrigen Nährböden darunter eingetragen.

bemerkt hatte (HAMADA 1939, S. 172).(1) Die pH wurden durch HCl bzw. KOH kontrolliert (Farbindikatoren). Wegen der leichten Hydrolisie-

(1) Zusammensetzung: HAMADA, S. 171. Dort H_2O: 1000 cc (nicht 10000)!

rung von Agar-Agar bei höheren Wasserstoffionen-Konzentrationen wurde beim pH = 4,3 Boden eine ca. doppelte Menge desselben (3,0%) zugesetzt. Um zu prüfen, wie sich die besonders grosse Menge Agar, also ausserordentlich solider Boden, für die verschiedenen Reaktionen verhalten wird, wurde ferner beim pH = 5,0 Boden ein 4,5%iges Agar zugesetzt (Zeichen: 5,0′). Die Ergebnisse sind zusammen mit denen anderer Reihen in Fig. 8 zusammengestellt.

Die gebrauchten 5 Nährböden (pH = 4,3, 5,0, 6,1, 8,0 und 5,0′) verhalten sich so schlecht für die Rhizomorpha- (Rh) und Braunhautbildung (B) sowie die Guttation (g)(1), dass man daraus keinen bestimmten Schluss über den Einfluss von pH sowie die Dichtigkeit des Agars ziehen konnte; für Luftmyzelbildung (L), Leuchten (l) und Kristallbildung (k) wirken sie aber ziemlich günstig.

Der Boden pH = 8,0 ist im allgemeinen der schlechteste; lediglich auf die Braunhautbildung (B) und die Bräunung der Nährböden (b) wirkt er etwas minder schlecht ein. Die Nährboden pH=4,3, 5,0 und 6,1 weisen im allgemeinen für alle Reaktionen nur geringfügige Unterschiede auf. Man dürfte daraus also schliessen, dass etwaige Verschiebungen von pH = 5,0 bei den Nährböden der übrigen Reihen wie Sojasauce-Agar fast keinen Einfluss auf alle Reaktionen mehr ausüben.

2. *Sojasauce-Agar-Reihe*

Zu dem gewöhnlichen Sojasauce-Agar-Boden (Nährboden 68 = SI) wurden getrocknete Bierhefe (SH in Fig. 8)(2), 1,5%iges (SPI und SPI′) und 4,0%iges Pepton (SPII) zugesetzt. Agarzusatz: gewöhnlich 3,5% nach Originalrezept (KITAJIMA),(3) bei SPI′ als Kontrolle 1,5%. Die Ergebnisse sind nebst denen des Orientierungsversuches (S, SI und SII) in Fig. 8 schematisch dargestellt.

Es liegt kein bedeutender Unterschied zwischen 3,5% und 1,5% Agar vor (vgl. Figur 8, SPI mit SPI′). Die Rhizomorphabildung (Rh) wird durch Hefezusatz (SH) ausserordentlich begün-

(1) Die Nährböden pH-Reihe hatte das Pepton: Stärke Verhältnis 1:1, was nach den Ergebnissen der Glukose-Pepton-Reihe ein gutes Leuchten und eine gleich gute Guttation herbeiführen soll. Dieses traf beim Leuchten (l) zu (Nährboden 5,0), während bei der Guttation (g) das Gegenteil der Fall war. Der Grund hierfür scheint meines Erachtens auf einer Differenz des Kolloidzustandes (also der brauchbaren Menge Wasser) zwischen Glukose? und Stärke-Böden zu beruhen.

(2) ca. 1—2 Jahre alt! nicht filtriert, sondern gleichmässig in jedem Glas dispergiert.

(3) Das Sojasauce-Agar stammte zuerst von Dr. MIYOSHI und SAITO. Der Boden wurde durch KITAJIMA für die Kultur von *Armillaria mellea* mit guter Rhizomorphabildung benutzt.

stigt. Dann folgen die gewöhnlichen Sojasauce-Agar-Böden, die 1,5% (SI) bzw. 2,5% Glukose (SII) enthalten. Der getrocknete Boden S ist, wie vorher betont, schlecht für die Rhizomorphabildung. Die Pepton-Zusätze, besonders 4,0% (SPII)[1], wirken so schlecht wie die pH-Reihe (Fig. 8, 5,0, 6,1, etc.), was zeigt, dass auch hier das N:C Verhältnis in gleicher Weise wie bei den synthetischen Nährböden (Glukose-Pepton-Reihe) zur Wirkung gekommen ist, wenngleich der Abstand zwischen SPI (Pepton 1,5%) und SPII (Pepton 4,0%) viel grösser ist als man bei der Glukose-Pepton-Reihe (Fig. 7 Rh) erwarten kann. Es sei nebenbei auch bemerkt, dass der beste Boden von dieser Reihe, nämlich V(3), (Fig. 8), nur eine mittlere Stelle einnimmt. Die günstige Wirkung des Sojasauceagar-Bodens scheint demnach nicht auf den gewöhnlichen Nährelementen zu beruhen (vgl. S. 444 ff.). Dass eine gute Rhizomorphabildung bei Sojasauceagar ohne Zusatz von Pepton (SI und SII) verwirklicht wird, deutet allerdings daraufhin, dass diese Kulturböden in sich selbst schon eine richtige Menge von assimilierbarer N-Quelle enthalten.

Für die Braunhautbildung (B) ist die Wirkung der Nährböden Sojasauceagar-Reihe im Wesentlichen dieselbe wie für die Rhizomorphabildung. Für die Luftmyzelbildung (L) wirkt hingegen das Pepton nicht so deutlich hemmend wie bei den anderen zwei Wachstumsreaktionen; es besteht kein Unterschied zwischen 1,5% (SPI) und 4,0%igem Zusatz desselben (SPII), ganz wie bei der Glukose-Pepton-Reihe (Fig. 6c).

Im Gegensatz zu den obigen drei Wachstumsreaktionen, bei welchen die besten synthetischen Glukose-Pepton-Böden [bei Rhizomorphabildung V(3), bei Braunhautbildung IV(1) und bei Luftmyzelbildung IV(3)] nur beinahe eine mittlere Stelle einnehmen, wirken die nämlichen Böden auf die 4 Ausscheidungsreaktionen besonders günstig ein, nämlich II(3) das Leuchten, II(5) die Bräunung, die Kristallbildung und III(3) die Guttation. Die gewöhnlichen Sojasauce-Böden (S, SI und SII), bei denen kein Pepton zugesetzt wurden, nehmen für diese letzteren Reaktionen nur eine unbedeutende Stelle ein, was auch mit den Wachstumsreaktionen in einem scharfen Kontrast steht. Und hier übt der Pepton-Zusatz auch die gleiche Wirkung aus wie bei der Glukose-Pepton-Reihe.

So steht die Wirkung des 4%igen Pepton-Zusatzes (SPII, N:C = ca. 2:1, s. unten) in Bezug auf Leuchten (l) und Guttation (g) hinter derjenigen von 1,5%igen (SPI, N:C = ca. 1:1) zurück, weil diese Reaktionen beim N:C = 1:1 maximal hervortreten; bei der Bräunung (b) und

(1) In Fig. 8 sind die SI- und SPII-Böden des Kontrastes wegen am grössten und doppel-kugelig gezeigt worden.

Kristallbildung (k) ist dagegen das Verhältnis ganz umgekehrt, denn das Pepton wirkt hierbei nach dem Prinzip: „je mehr, desto besser" (Fig. 6e und 6g). Die beim Orientierungsversuch offengebliebene Frage, in welchem Grade Pepton-Zusatz auf das Sojasauce-Agar wirkt, ist hier völlig gelöst.

Gesetzt, dass die C-Menge im Sojasauce-Hefe (1,5%)-Boden (SH) ca. 2,0% beträgt (Zusatz als Glukose 1,5% und ein wenig vom Zwiebeldekokt(1)), und dass hierbei auch das Ergebnis von der Glukose-Pepton-Reihe ohne jene Modifikation, die wir oben bei der Rhizomorphabildung gesehen haben, zur Anwendung gekommen ist, so sollte das N:C Verhältnis in diesem Boden ca. 1:2 betragen (also N=1% aus 1,5%iger Hefe(2) etc. und C=2%), wie es die Kristallmenge veranschaulicht, die hier etwas weniger als ½ des besten Bodens II (5) beträgt (vgl. Fig. 7k). Diese Schlussfolgerung trifft auch für alle anderen Reaktionen zu (vgl. N:C=1:2 (SH) mit N:C=ca. 1:1 (SPI) und ca. 2:1 (SPII) bei den III-Kurven der Fig. 7).

Aus dieser Übereinstimmigkeit der Schlussfolgerung kann man auch umgekehrt mit Recht sagen, dass unsere zwei Annahmen richtig waren, nämlich einerseits, dass das Zwiebeldekokt ca. 0,5%iges C enthält, also die 1,5%ige Hefe fast gar nicht als C-Quelle dienlich ist, und anderseits, dass auf die Kristallbildung, nicht aber auf die Rhizomorphabildung, die früheren Resultate aus der Glukose-Pepton-Reihe ohne wesentliche Modifikation anwendbar sind. Eine Vergewisserung, dass bei den natürlicheren Nährböden wie der Sojasauceagar-Reihe auch das N:C Verhältnis stets qualitativ gleichbedeutend ist wie bei der Glukose-Pepton-Reihe, kann uns später bei der Betrachtung der *Galeola*-Wurzel (Kapitel X) einen sicheren Anhaltspunkt geben (vgl. auch unten).

3. Kartoffel-Agar-Reihe (Fig. 8)

Im Gegensatz zum Zwiebeldekokt im Sojasauce-Agar muss man die C-Menge des Kartoffeldekoktes als sehr reichlich ansehen, weil frische Kartoffeln maximal ca. 20% Stärke zu enthalten pflegen,(3) sodass der Prozentsatz von Kohlenstoff im Kartoffel-Agar mindestens 5% beträgt (1,5% als Glukose und ca. 3,5% aus dem 200 gr Frischgewicht der Kartoffel). Das N:C Verhältnis ist demnach ca. 1:3,3 für 1,5%igen

---

(1) 200 gr. frische Zwiebel enthält ca. 8 gr C- und 4 gr N-Verbindung (nach Dai-Hyakka-Ziten Bd. 13).

(2) Der N (Atom)-Gehalt der Hefe: nach SCHÜTZENBERGER (vgl. WEHMER 1891b, S. 425 Anm.) 6–15%, nach FINK u. a. (1935, S. 28) 8–10%; Eiweissgehalt nach demselben 53–59%, alle bezogen aufs Trockengewicht. Beiläufig sei bemerkt, dass der N-Gehalt von Myzel von *Mucor stolonifer* 9,62% (Rohrzucker), 7,41% (Glukose) (BUTKEWITSCH 1903, S. 220); *Aspergillus niger* 4,1–4,9%, *Oidium* 6% etc. ist. SCHNÜCKE 1924, vgl. BUTKEWITSCH etc. 1935b, S. 451).

(3) Nach Dai-Hyakka-Ziten Bd. 13 (N-Verbindung ca. 2%).

Pepton-Zusatz (KPI) und 1:1,3 für 4,0%igen Pepton-Zusatz (KPII). Bei der Anwendung der Ergebnisse der Glukose-Pepton-Reihe (Fig. 7) wird demnach die Kurve-IV (C = 4,0%) benutzt.

Auf diese Weise kann man sehr leicht erklären, warum z. B. der KPI- und KPII-Boden bei g (Guttation) in der Fig. 8 sich so nahekommen, usw., abgesehen davon, dass sie für die Kristallbildung bei weitem günstiger wirken als man bei dem N:C der Nährböden erwarten kann. Der Grund hierfür ist leider noch nicht ersichtlich.(1)

4. Asparagin-, Glyzerin- und Mannit-Boden (Fig. 8)

Nach den Resultaten (Fig. 8) kann man sagen, dass im allgemeinen das Asparagin (Zeichen: a) als reine N-Quelle und das Glyzerin (g) bzw. Mannit (m) als C-Quelle ebensogut wie Pepton bzw. Glukose (oder Stärke) benutzt werden können (vgl. a, g und m mit Symbol 5,0 in der Abbildung), nur dass das Asparagin auf das Leuchten besonders schlecht einwirkt.

Es ist aber noch nicht ersichtlich, inwieweit etwaige Beimengungen des gebrauchten Peptons, die geringfügige Differenz vom Zahlenverhältnis der C- oder N-Atome jeder Substanz beim gleichprozentigen Zusatz(2) usw., ausser den Messungsfehlern, die Resultate beeinflusst haben.

5. Salz-Reihe (Fig. 8)

Bei der Salz-Reihe wurden die Verarbeitungsmöglichkeiten der anorganischen N-Salze sowie die Wirkung des Mangels einiger Elemente geprüft. Die Nährböden sind wie folgt:

(1) Ammoniumnitrat (1,5%) als N-Quelle (Zeichen 82 in der Fig. 8).
(2) Ammoniumstickstoff bei Abwesenheit von Nitrat (84).
(3) Nitratstickstoff bei Abwesenheit von Ammonium (85).
(4) Wirkung von Phosphor-Mangel (83).
(5) Wirkung von Schwefel-Mangel (86).(3)
(6) Wirkung von Magnesium-Mangel (87).

Im allgemeinen üben die Salzböden auf die meisten Reaktionen des Pilzes keine günstige Wirkung aus, nur dass der Boden 82 (NH_4NO_3)

---

(1) Ein Gleiches bei der Oxalsäurebildung aus Stärke plus Hefe teilten auch FALCK u. a. (1933) mit (*Aspergillus niger* etc.), aber gleichfalls, ohne die Gründe dafür anzugeben.

(2) Die Zahlen von C-Atom stimmen bei dem gleichen Prozentsatz von Glukose (und Stärke), Glyzerin bzw. Mannit fast miteinander überein, nämlich ca. 3 gr/100 gr.

(3) Der Boden 86 enthält ein Spur $FeSO_4$.

eine gute Bedingung für die Kristallbidung,[1] und der Boden 86 (S-Mangel) und 87 (Mg-Mangel) eine solche für die Guttation herstellen. Allerdings ist gewiss, dass bei gegebenen Bedingungen das Ammonium bzw. das Nitrat fast — vielleicht auch ganz — unbrauchbar für das Wachstum von *Armillaria mellea* sind[2].

D. Form und Farbe der Rhizomorpha (Tab. VII), und Färbung der Guttationsflüssigkeit (Tab. VIII)

Die morphotische Äusserung der Rhizomorpha lässt sich durch das Verhältnis C:T, d. h. wie oft die Form C (Subcorticalis) bzw. die Form T (Subterranea) in den Nährböden auftritt, ausdrücken; sie ist in Tab. VII angegeben. Die Zwischenformen (z. B. Form CT) wurden je ½ C und ½ T berechnet. In der Tabelle VII ist auch die Farbe von Rhizomorpha angegeben und in der Tab. VIII die der Guttationsflüssigkeit.

Das Formverhältnis von Rhizomorpha C:T nimmt bei der Nährböden Glukose-Pepton-Reihe von oben nach unten mit dem Glukose-Zusatz zu, während es durch den Pepton-Zusatz (von links nach rechts, abgesehen von 0% Pepton) fast keine Änderung erfährt. Der Bereich, wo die Subterranea-Form sich gut entwickelt, liegt in Tab. VIIa ausserhalb des durch die dicken Linien gekennzeichneten Rahmens. Die Form von Rhizomorpha steht also, verschieden von der Bildung selbst, nicht unter der Herrschaft des N:C Verhältnisses der Nährböden.

Allein bei der Sojasauceagar-Reihe betragen die Verhältnisse C:T über 1, was zeigt, dass nur bei diesen Nährböden die Subcorticalis-Form von Rhizomorpha prädominiert.[3] Die Kartoffel-Agar-Reihe zeigt bereits nur niedrigere Bildungen der Subcorticalis-Form.

Rhizomorphafarben: Unter allen hier behandelten Pilzeigenschaften sind die Ursache zur Bildung der Rhizomorphafarben am kompliziertesten: Sie werden ausser durch das N:C Verhältnis durch andere Nährelemente wie Phosphor, und am meisten durch die Rhizomorphaformen modifiziert. Ferner spielt die Kulturdauer dabei eine grössere Rolle. Folgendes scheint der Fall zu sein:

---

(1) Hier sei aber darauf hingewiesen, dass die „reichlichere Kristallbildung" beim Nährboden 82 nicht die absolute Menge im ganzen Nährbodeninnern andeutet, sondern dass es sich nur um ein kleines Gebiet handelt, wo eine kleine Menge Myzel hindurchwächst, wie dies auch von der Luftmyzelbildung (L in Fig. 8) angenommen werden.

(2) Das Ammonium sollte aber beim Vorhandensein von organischen Säuren leicht benutzbar sein (vgl. S. 439 ff.).

(3) Auf das ausserordentlich hohe Verhältnis beim SPII-Boden und die etwas höheren Werte bei der Nährböden pH-Reihe ist wegen allzu schlechter Rhizomorphabildung bei diesen Nährböden (Fig. 8) kein grosses Gewicht zu legen.

TABELLE VII. Form und Farbe von Rhizomorpha.

a. Glukose-Pepton-Reihe.

Pepton %		(0) 0,0	(1) 0,5	(2) 1,0	(3) 2,0	(4) 4,0	(5) 8,0
0 (Glukose 0 %)	C/T[1]	0	0	—	0	—	—
	Farbe[2]	g	b	—	b	—	—
I („ 0,5%)	C/T	0	0	1/16	1/12	1/6	0
	Farbe	g	g–b	g–b	b	g–b	b
II („ 1,0%)	C/T	1/6	1/11	1/7	1/5	1/6	1/3
	Farbe	g	g	g	g–b	b	g–b
III („ 2,0%)	C/T	0	1/3	1/3	1/4	1/3	1/2
	Farbe	g	g	g	g	g	g–b
IV („ 4,0%)	C/T	0	1/4	1/3	1/3	1/2	1/3
	Farbe	g	g	g	g	g	g
V („ 8,0%)	C/T	0	1/3	1/2	1/3	1/2	1/2
	Farbe	g	g	g	g	g	g

Die Subterranea-Form von Rhizomorpha tritt meist ausserhalb vom dicken Rahmen der Tabelle üppig auf.

b. Sojasauce-Agar-Reihe	SI[3]	SII	S	SH	SPI	SPI′	SPII
C/T[1]	19/9	9/5	5/3	11/3	3/2	3/2	4
Farbe[2]	w–g	w–g	w–g	w	w	g	w–g

c. Kartoffel-Agar-Reihe	KI[3]	KPI	KPII
C/T[1]	1/2	1/2	1/3
Farbe[2]	g	g–b	b

d. pH, Asparagin, usw.	5,0[3]	4,3	5,0	6,1	8,0	a	g	m
C/T[1]	0	1	1	1/2	—	0	1/2	1/2
Farbe[2]	b	g–b	g–b	g–b	—	b	g	g

e. Salz-Reihe	NH_4NO_3[3]	NO_3–frei	NH_4–frei	PO_4–frei	SO_4–frei	Mg–frei
C/T[1]	—	—	—	0	0	0
Farbe[2]	—	—	—	b–s	w	w–g

1) C/T bedeutet das Zahlenverhältnis der Subcorticalis- und Subterranea-Form von Rhizomorpha, die in den Nährböden auftraten.

2) w : weiss, g : gelb, b : braun, s : schwarz, — keine Rhizomorphabildung.

3) Zeichen der Nährböden vgl. Anhangstabelle.

(Bei den Farben der Rhizomorphen sind die statistisch häufigsten angenommen).

i) Wo die Subterranea-Form überwiegt (Tab. VII, Glukose-Pepton-Reihe), folgt die Rhizomorphafarbe dem N:C Verhältnis der Nährböden. So entsteht aus den 0:0 bis 1:1 Böden stets eine gelbe, aus den 2:1 eine gelb-gelbbraune, aus den 4:1 bzw. 8:1 eine gelbbraun-braune und aus dem 16:1 eine braune Rhizomorpha (betrachte die Tabelle schräg von links oben nach rechts unten),

ii) Wo die Subcorticalis-Form überwiegt (Tab. VII, Sojasauceagar-Reihe), ist die Farbe stets weisslicher (weiss-weissgelb) als man von den N:C Verhältnissen der Nährböden erwarten dürfte (z. B. Nährboden SPII N:C = 2:1). Für nähere Kritik der Abhängigkeit der Farbe vom N:C bei Sojasauce-Agar ist aber die Zahl der gebrauchten Nährböden bei dieser Reihe noch unzureichend.

iii) Der PO_4-freie Boden lässt die Farbstoffbildung der Rhizomorphen von T-Typus am tiefsten, fast schwarz, ausfallen. Der Grund hierfür ist aber noch unklar.

iv) Die längere Kulturdauer verursacht Anhäufung des Farbstoffs; die Rhizomorpha wird immer bräunlicher. So wird z. B. die anfangs weisse subcorticale Rhizomorpha bei der Sojasauceagar-Reihe mit der Zeit immer tiefer und färbt sich oft bis gelbbraun. Diese Neigung ist vor allem auffallend beim Stamm *Armillaria* 105, der —wie später erläutert werden wird—die Rhizomorpha am üppigsten bildet (S. 425 ff.)[(1)].

Die Farbe der Guttationsflüssigkeit. Im Gegensatz zu der Rhizomorpha-Farbe verhält sich die Farbe der Guttationsflüssigkeit mit der Bräunung von Nährböden (Fig. 6e) übereinstimmend: Bei der

(1) Die Form und Farbe von Rhizomorpha werden später beim Nachversuch 1. noch einmal behandelt werden.

TABELLE VIII. Farbe der Guttationflüssigkeit.

a. Glukose-Pepton-Reihe.

Pepton %	(0) 0,0	(1) 0,5	(2) 1,0	(3) 2,0	(4) 4,0	(5) 8,0
0 (Glukose 0 %)	—	—	—	—	—	—
I („ 0,5 %)	w–g	g	g	b	b–s	s
II („ 1,0 %)	w	w	g–b	b	s	s
III („ 2,0 %)	—	w	g	b	s	s
IV („ 4,0 %)	w	w	g	g–b	b–s	s
V („ 8,0 %)	w	w–g	w–g	g	b–s	s

b. Sojasauce-Agar-Reihe	SH	SPI	SPI′	SPII
	—	b–s	b–s	b

c. Kartoffel-Agar-Reihe	KPI	KPII
	b	s

d. pH, Asparagin, usw.	5,0′	4,3	5,0	6,1	8,0	a	g	m
	w	b	b	b	s	—	b	g–b

e. Salz-Reihe	NH_4NO_3	NO_3–frei	NH_4–frei	PO_4–frei	SO_4–frei	Mg–frei
	—	—	—	—	w–g	g

w: weiss, g: gelb, b: braun, s: schwarz, —: keine Guttation.

Glukose-Pepton-Reihe (s. Tab. VIII) hat der Glukose-Zusatz keinen besonderen Einfluss auf die Farbe der Guttationsflüssigkeit, nur der Pepton-Zusatz übt eine ausserordentlich bedeutende Wirkung aus. Die Farbe nimmt mit dem Pepton-Zusatz in der Dunkelheit stark zu, um schliesslich mit 8%igem Pepton ganz schwarz zu werden. Auch bei anderen Nährböden, z. B. bei der Sojasauceagar- bzw. Kartoffelagar-Reihe, zeigen die Flüssigkeiten diejenigen Farben, die durch Pepton-Zusatz erzeugt werden.(1)

(1) Die Farbennuance, z. B. beim Boden SPII, 8,0 ist aber wegen der besonders schlechten Guttation nicht zu behandeln.

Zusammenfassend kann man sagen, dass bei den *Armillaria mellea*-Stämmen, einschl. der *Galeola*- und *Gastrodia*-Symbionten, zwei ganz voneinander verschiedene Farben vorkommen, nämlich erstens die Bräunung der Nährböden und der Guttationsflüssigkeit, welche mit zunehmendem Pepton ihren Ton verstärken und keine Abhängigkeit vom N:C Verhältnis der Nährböden zeigen, sowie zweitens die Rhizomorpha-Farbe, welche mit dem N:C der Nährböden in gewissem Zusammenhang steht (vgl. S. 395/6).

E. Die Kristallformen (Fig. 9)

Die in den Nährböden bei den Hauptversuchen aufgetretenen Kristallformen wurden in der Fig. 9 zusammengestellt. Es handelt sich hier aber nur um die häufigsten Formen; die in kleiner Menge beigemengten Formen wurden aus der Figur weggelassen. In der Figur zeigt die obere Reihe die Formen der Bodenkristalle und die untere die der Hyphenkristalle.

Die Ergebnisse sind keineswegs weniger kompliziert als diejenigen der oben angeführten Rhizomorphafarben (Tab. VII). Die Kristallform steht nie in engerem Zusammenhang mit einzelnen Bedingungen, wie z. B. der Kristallmenge oder dem N:C Verhältnis der Nährböden usw., sondern scheint von deren Kombinationen, und weiter von verschiedenen anderen Umständen beeinflusst zu werden.

Nach Angaben verschiedener Autoren, z. B. NAKAYA, FREY-WYSSLING, sollten für die Kristallformen die folgenden Faktoren massgebend sein:

1. Bildungsgeschwindigkeit.
2. Umstandsbedingungen (physikalisch-chemisch).

Es ist nun einleuchtend, dass die Bildungsgeschwindigkeit unserer Kristalle (Kalkoxalat-Trihydrat) weiter durch folgende Konstellationen bedingt wird, nämlich: die Kalkmenge, die Ausscheidungsgeschwindigkeit; und das Mengenverhältnis der Oxalation, die Menge des Wassers (osmotischer Druck usw.). Ferner, die Umstandsbedingungen durch die Diffusionsgeschwindigkeiten der Ionen (Effekt z. B. durch den Kolloidzustand), die pH, die Temperatur, die mechanischen Wirkungen (z. B. Festigkeit der Agarböden, die Form der Zelle) usw., wenngleich in vorliegendem Falle die Kalkmenge und die Temperatur konstant blieben.

Die Bedingungen für die Kristallformen sind also je nach den Böden 0, I, II, ... unter der Glukose-Pepton- Reihe, den Sojasauce- und Kartoffel-Agar-Reihen usw., wie auch bei Boden- und Hyphekristallen weitgehendst verschieden.

Fig. 9. Kristallformen bei den Hauptversuchen.

○, ●: Einzelkristalle (1. Reihe, vgl. Fig. 4), von denen die Form Q als Standard mit einer schwarzen Kugel (●) bezeichnet wurde.
Ⓦ, Ⓑ, Ⓕ, Ⓕ', etc.: Formen von der 2. und 3. Reihe*.
Zeichen der Nährböden: O, I, II, etc. V: Glukose-Pepton-Reihe,
S, SI, SII, SH, etc.: Sojasauce-Agar-Reihe (S, SI und SII aus den Orientierungsversuchen),
KI, KPI und KPII: Kartoffel-Agar-Reihe (KI aus den Orientierungsversuchen),
a, g und m: Asparagin-, Glyzerin- und Mannit-Boden,
4,3, 5,0, etc.: pH-Reihe,
82, 84, 85, etc.: Salz-Reihe (Näheres s. Anhangstabelle).
In der Figur wurden nur die häufigsten Formen gezeigt.

* Beim Bodenkristall K aus Nährboden 5,0′ (Agar 4,5 %): sehr kleine 1-Form, vielleicht wegen besonders schlechtem Diffusionsvermögen der Kalk- bzw. Oxalationen in diesem Agarboden. W: meist formlose Aggregate. F″ (bei 5,0′) s. S. 449 Anm. 3).

So entsteht die **bipyramidische Form** Q (s. die schwarzen Kugeln der Figur) bei den I-Böden erst bei 8% Pepton (N:C = 16:1), während sie bei II schon beim 4% Pepton (N:C=4:1) auftritt usw. Sie entsteht auch bei der Sojasauceagar-Reihe schon aus N:C = 1:2 (SH-Boden), bei der Kartoffelagar-Reihe, wo der grösste Teil der C-Quelle durch osmotisch unwirksame Stärke repräsentiert worden ist, bereits beim N:C = ca. 1:3 (KPI-Boden). Das höhere N:C der Nährböden, also die gute Kristallbildung, wirkt demnach *ceteris paribus* für die Entstehung der Pyramide günstig. Dies ist besonders bei den Bodenkristallen, und auch mehr oder minder bei den Hyphekristallen der Fall, obgleich bei den letzteren statt der einzelnen Q-Form meist die kompliziertere W-Form (warzenförmig bzw. formlos) aufzutreten pflegt. Für andere Bedingungen, die dabei bald günstig, bald aber hemmend einwirken, soll heute des Mangels der Bedingungskombinationen wegen keine Rede sein. Die Erwartung bei den Orientierungsversuchen, dass die Kristallformen durch die Kristallmenge oder durch das N:C Verhältnis der Nährböden bedingt würden (S. 403), ist allerdings mit bestimmten Einschränkungen als berechtigt anzusehen.

F. Stämmliche Besonderheiten (Fig. 10)

Obgleich jeder Pilzstamm gegenüber den Nährbodenarten im grossen Ganzen gleich reagiert, gibt es jedoch gewisse Differenzen in Bezug auf die Reaktionsgrösse. Diese Differenzen sind in Fig. 10 gegeben, in welcher die Schätzungswerte aller Nährbodenreihen der Hauptversuche für alle Stämme zusammengestellt worden sind. Man kann ersehen:

1. Der die Rhizomorpha und die Braunhaut am stärksten bildende Stamm: *Armillaria mellea* Nr. 105 (in der Figur: Symbol 105, vgl. Tab. I).
2. Die das Luftmyzel am üppigsten bildenden: *Galeola-Symbiont* 11 (g′) und *Armillaria* 15 (15).
3. Die am stärksten leuchtenden Stämme: *Armillaria mellea* Nr. 94 und 15; die am schwächsten leuchtenden: *Armillaria* 105 und *Gastrodia*-Symbiont (Gst).
4. Die Bräunung der Nährböden war beim Stamm *Gastrodia*-Symbiont (Gst) am stärksten, und bei *Armillaria* 105 am schwächsten usw.

Soweit die allgemeine Charakteristik. Es gibt aber noch einige Besonderheiten in Bezug auf die Nährbodenarten (z. B. synthetische und Dekokt-Böden) und die Zusammensetzung und Menge der Nährelemente. Einige auffallende Fälle seien hier beiläufig erwähnt:

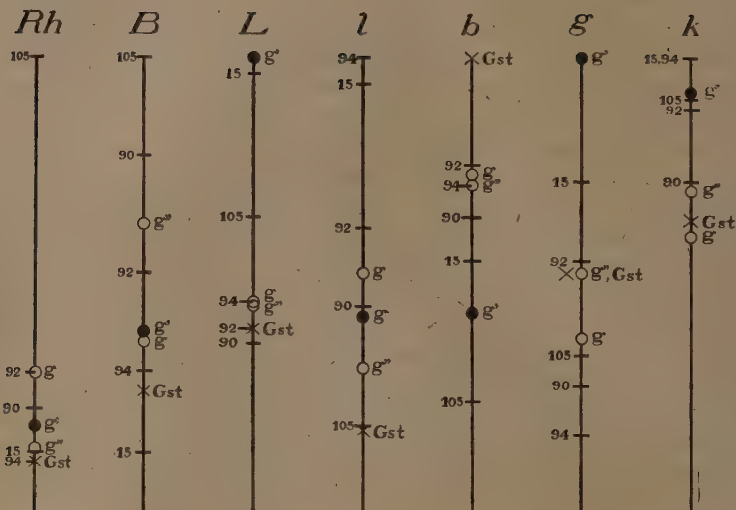


Fig. 10. **Stämmliche Eigentümlichkeiten** (Mittelwert* aller Nährböden bei den Hauptversuchen; hier ist der Stamm mit grösstem Reaktionsbetrag bei jeder Eigenschaft gleich 100 gesetzt; vgl. die Erklärung zu Fig. 8).

Rh: Rhizomorpha-, *B*: Braunhaut-, *L*: Luftmyzelbildung.

l: Leuchten, *b*: Bräunung von Nährböden, *g*: Guttation, *k*: Kalkoxalatkristallbildung.

○ g: Stamm *Galeola*-Symbiont Nr. 1; g'' derselbe Nr. 101,

● g': Stamm *Galeola*-Symbiont Nr. 11.

▬ (Nr. 15, 90, 92, 94 und 105): die *Armillaria mellea*-Stämme.

× (Gst): *Gastrodia elata*-Symbiont (vgl. Tab. I).

---

* Mittelwert der Pilzstämme aus 119 Kulturgläsern.

a) Der Stamm *Armillaria* 15 bildet bei der Nährböden Glukose-Pepton-Reihe wie auch der Salz-Reihe ein besseres Luftmyzel als der Stamm *Galeola*-Symbiont 11 (g' in der Fig. 10), während bei den Dekokt-Böden das Verhältnis völlig umgekehrt ist.

b) Der *Gastrodia*-Symbiont (Gst), der die Verbräunung der Nährböden als Ganzes im grössten Masse verursacht, wird aber in dieser Beziehung bei den Dekoktböden durch Stamm *Galeola*-Symbiont 101 (g'') und *Armillaria* 92, und bei den Salzreihe-Böden durch Stamm *Galeola*-Symbiont 1 (g) und 101 (g'') übertroffen.

c) Der Stamm *Armillaria* 15 weist, wenn ein reichlicheres Pepton dargeboten wird oder das N:C Verhältnis zunimmt,

ein sehr gutes Leuchten auf, welches oft den Stamm *Armillaria* 94 übertrifft, wenngleich der letztere den ganzen Bereich von N:C hinüber überhaupt stärker leuchtet. Die schlecht leuchtenden Stämme wie *Armillaria* 105 und *Gastrodia*-Symbiont sowie der oben erwähnte Stamm *Armillaria* 15 leuchten bei ungünstigen Bedingungen, vor allem beim Pepton=0% (1), nur schwach, bei den zwei ersteren überhaupt nicht. Die fördernde Wirkung der günstigen Bedingung fällt also vor allem bei den schlecht leuchtenden Stämmen in die Augen, während bei den gut leuchtenden, wie Stamm *Armillaria* 94, die Wirkung nicht bedeutend ist.

Die Kurven im Sinne der Fig. 6d verlaufen also je nach den Stämmen, wenngleich gleichgerichtet, bald steiler, bald sanfter. Der „günstigste" Zustand wirkt hierbei auf das Leuchten der stark leuchtenden Stämme wie *Armillaria* 94, im Vergleich mit dem „ungünstigsten" Zustand, nicht immer stark steigernd ein. Es ist aber nicht klar, ob es sich hier um eine Hemmung durch irgend einen der Minimumfaktoren handelt oder nicht. Indessen ist nicht abzuleugnen, dass die Widerstandsfähigkeiten u. dgl. gegenüber den verschiedenen Bedingungen je nach den Stämmen nicht die gleichen sind.

Es ist heute noch ganz unklar, welche Einwirkung die oben angeführten stämmlichen Differenzen auf das symbiotische Leben von *Galeola* bzw. *Gastrodia* in freien Wäldern haben können. Die Stämme *Galeola*-Symbiont 1 (g) und 101 (g") sind allerdings aus zwei Wirtspflanzen isoliert, die nicht weit von einander entfernt gewachsen waren (auf zwei nebeneinander stehenden kleinen Bergen, Kuramayama und Kibuneyama, bei Kyoto). Es war auch ganz überraschend, dass ein *Gastrodia*-Knöllchen aus der Provinz Iwate mit dem Stamm *Armillaria* 105 aus der Provinz Nagano künstlich im Erlenmyerkolben symbiosiert wurde, und während ca. drei Jahren immer ein etwas grösseres Knöllchen das ältere jährlich ersetzt hatte.

VI. Nachversuch 1.

Bedingungen der Differenzierung der zwei Formen von Rhizomorpha, *Rh. subterranea* und *Rh. subcorticalis*

Um die Bedingungen klarzustellen, durch welche die obigen zwei Formen von Rhizomorpha voneinander abweichen, wurden nachstehende Versuche durchgeführt. Die Idee wurde durch eine gelegentliche Kultur vom Stamm *Gastrodia*-Symbiont auf Honig-Hefe-Agar (Zusammensetzung s. S. 404 Anm. 1) (2) eingegeben, welches als organische Bestandteile Honig und Hefe enthält.

(1) Auch in Bezug auf die Temperatur usw., die hier nicht behandelt wurde?

(2) Der Nährboden ist auch sehr geeignet zur Kultur von *Armillaria Matsutake*, dem wohlbekannten japanischen Speisepilz. Betreffs Schwierigkeiten der Reinkultur dieses Pilzes sei auf die Angaben von NISIKADO verwiesen.

Auf diesem Nährboden bildete sich eine typische Subterranea-Form von Rhizomorpha, welche mit einer schwarzen glatten, etwas brüchig-



Fig. 11. Die 9 Pilzstämme auf dem Nährboden 94 (Hefe-Glukose-Agar = HG). Oben Vorder-, Mitte Profil- und unten Hinterseiten-Ansicht der Kulturgläser. *g*: Stamm *Galeola*-Symbiont Nr. 1; *g′*: derselbe Nr. 11; *g′′*: derselbe Nr. 101; Nr. 15, 90, 92, 105 und 94 die *Armillaria mellea*-Stämme; *Gst*: *Gastrodia elata*-Symbiont (vgl. Tab. I).

Siehe die ausgeprägte Bildung der Rhizomorpha von Subterranea-Form und der Braunhaut (Nachversuch 1., Kultur 11. April 1939, Photo 25. Mai 1939; 20–24°C (im Dunkeln), × ca. 4/9).

harten Haut versehen war. Der Erfolg war ganz auffallend. Die Form

kontrastierte stark mit derjenigen von *Rh. subcorticalis,* welche sich auf Sojasauce-Agar bildete (s. Fig. 2, S. 393). Auf Grund dieser Tatsache habe ich eine Reihe von Nährböden angefertigt, deren jeweilige Zusammensetzung in der Anhangstabelle gegeben ist. Die Nährböden lassen



Fig. 12. Die 9 Pilzstämme auf dem Nährboden 98 (Sojasauce-Glukose-I-Agar =SGI). Siehe die ausgeprägte Bildung der Subcorticalis-Form von Rhizomorpha. Sonstiges wie Fig. 11.

sich wie folgt einteilen:

I. Verschiedene Hefe-Agar-Böden ohne bzw. mit Zusatz von verschiedenen Mengen von Glukose (statt des Honigs)

und Pepton (HG, HGPI, HGPII und HGPIII) und 0,8%igem Kochsalz (HG-NaCl), was fast demjenigen Salzgehalt entspricht, der in 50 cc Sojasauce pro Liter Nährlösung enthalten ist.

II. Verschiedene Sojasauceagar-Böden mit Zusatz von verschiedenen Mengen von Glukose oder Hefe, aber ohne Zwiebeldekokt, welches bei den bisherigen Sojasauceagar-Böden stets enthalten war.

Die Versuche wurden am 11. April 1939 begonnen und am 9, Mai abgeschlossen (also nach 4 Wcchen). Die Temperatur des Brutofens war ca. 24°C (Dunkel). Die Ergebnisse wurden in der Tab. IXa und b sowie in den Fig. 11 und 12 zusammengestellt.

Aus der Tabelle ist eindeutig zu ersehen:

TABELLE IXa. Rhizomorpha- und Braunhautbildung bei den Nachversuchen 1.

(a). Rhizomorphabildung.
SGI > SGH ≥ HGPII > SGII > HG > HG-NaCl ≥ HGPIII > HGPI ≥ H *

(b). Braunhautbildung.
SGH > SGII > SGI, HGPII > HG > HG-NaCl ≥ HGPI > HGPIII ≥ H *

(* Zeichen der Nährböden vgl. Anhangstabelle).

TABELLE IXb. Form und Farbe von Rhizomorpha bei den Nachversuchen 1.

Nährböden Nr. 93/101	H	HG (Glukose =2%)	HG-NaCl (Glukose =2%)	(Pepton =2%) HGPI (Glukose =2%)	(Pepton =0.5%) HGPII (Glukose =2%)	(Pepton =2%) HGPIII (Glukose =0.5%)	SGI (Glukose =2.5%)	SGII (Glukose =5%)	SGH[3] (Glukose =2.5%)
C/T[1]	0	1/8	1/9	1/27	1/8	1/8	9	8/5	5
Farbe[2]	b–s	g–b	g–b	b–s	g–b	b–s	w	w–g	w

(1) C/T bedeutet das Zahlenverhältnis der Subcorticalis- und Subterranea-Form von Rhizomorpha, die in den Nährböden entstanden.

(2) w : weiss, g : gelb, b : braun, s : schwarz.

(3) Zeichen der Nährböden vgl. Anhangstabelle. Beim Nährboden HGPI (N:C=ca. 1:1) findet eine gute Guttation statt (Flüssigkeitsfarbe: gelbbraun bis braunschwarz). Die Guttation aus den anderen Nährböden ist sehr schwach bzw. fast nicht vorhanden.

1) Was für die Differenzierung von Rhizomorphaformen am massgebendsten ist, sind nicht der Honig[1] oder die C-Menge im Zwiebeldekokt bzw. das Kochsalz in der Sojasauce, sondern zwei verschiedene Wirkstoffe in der Hefe bzw.

(1) Den Honig kann man durch Zucker wohl ersetzen, denn der Pilz gedeiht mit dem Zucker ebensogut wie mit dem Honig. Dies war auch bei *Armillaria Matsutake* der Fall (vgl. S. 445).

der Sojasauce. Der eine davon veranlasst die Bildung der Subterranea-Form, während der andere eindeutig diejenige der Subcorticalis-Form herbeiführt.

2) Die Hefe färbt die Subterranea-Form von Rhizomorpha braunschwarz. Die Farbe stimmt mit derjenigen der Braunhaut überein, die auch auf dem Hefe-Boden sehr auffallend und, im Gegensatz zu der auf dem Sojasauce-Boden, meist ohne Myzeldecke gebildet zu werden pflegt (ausschl. der Stämme *Armillaria* 15 und 94, s. Fig. 11).

   Der Glukose-Zusatz wirkt dabei etwas bleichend (z.B. HG und HGPII), der Pepton-Zusatz dagegen umgekehrt (HGPI und HGPIII). Die Farbe der Subterranea-Form steht demnach, wie vorher betont, in gewissem Zusammenhang mit dem N:C Verhältnis der Nährböden, ist aber weitgehend tiefer als man von der Glukose-Pepton-Reihe (Tab. VII) erwarten kann. (Die Gründe hierfür sind noch nicht klargelegt worden.)

3) Durch Sojasauce wird die Wirkung der Hefe, die Subterranea-Form entwickeln zu lassen, völlig verdeckt und es bildet sich nur die weisse, runzelige Subcorticalis-Form (SGH)[1]. Es war dabei auch ganz überraschend, dass beim SGH-Boden (Hefe+Sojasauce) bereits keine Entwicklung der sklerenchymatischen Markschicht mehr stattfand, welche sich bei der Hefe allein gut entwickelte (vgl. Fig. 3A : HG-Boden).

VII. Nachversuch 2.

Über Auflösung und Weiterverbrauch der einmal gebildeten Kalkoxalatkristalle

Als ich mich bei *Galeola septentrionalis* mit den jahreszeitlichen Stoffveränderungen beschäftigte (1936/37), setzte mich oft die Tatsache in Erstaunen, dass die in der Pilzwirtsschicht (Aussenrinde) von den Wurzeln genannter Pflanze ausgeschiedenen Kalkoxalatkristalle, welche im allgemeinen nach ihrem Auftreten als unmobilisierbar angesehen werden (vgl. z. B. FREY-WYSSLING), erschienen und wiederverschwan-

(1) Dies deutet auf eine Möglichkeit hin, nämlich, dass es der Hefe (alt–) an einem Wirkstoffe fehlt, welcher in der Sojasauce vorliegt und die Subcorticalis-Form veranlasst. Falls diese Annahme richtig ist, so müsste man daraus schliessen, dass für die Subcorticalis-Bildung zwei Substanzen oder zwei Gruppen von solchen, für die Subterranea-Bildung aber nur eine bzw. eine Gruppe von Substanz notwendig sind.

den, wie dies in Fig. 14 (S. 448) niedergelegt wurde.(1) Diese Tatsache brachte mich nun auf vorliegende Versuche, denen folgender Gedankengang zu Grunde liegt:

1) Weil in der Pilzwirtsschicht der Pilz überhaupt die Oberhand über den Wirt behält, während die Schicht selbst nicht selten stark verzehrt wird, so liegt der Gedanke nahe, dass die vom Pilz ausgeschiedenen Kristalle während der Winterzeiten wieder durch den Pilz selbst verarbeitet werden, und

2) Da die Kristalle bei Überschuss von Pepton, nicht aber bei Überschuss von Zucker, gebildet werden, so muss es auch durchaus der Zucker sein, welcher für die einmal gebildeten Kristalle wieder auflösend wirkt.

Die in dieser Hinsicht angestellten Versuche brachten befriedigende Resultate:

Zu denselben Kulturglässern, die mit Nähr-Agar 95 (= HGPI) für den Nachversuch 1. verwandt worden waren (je 1 Reagensglas für jeden der 9 Stämme), wurden am 29. Mai 1939 je ca. 3 cc 45%iger Glukoselösung steril zugesetzt, eine Menge, die das anfängliche N:C Verhältnis (= ca. 1:1) des genannten Nähr-Agars bis auf ca. 1:5 vermindert. Diese Gläser wurden dann bis zum 9. August desselben Jahres im Dunkeln bei Zimmertemperatur von ca. 25–33°C aufbewahrt. Die zugesetzte Flüssigkeit verschwand dabei völlig (durch Absorption und Verdunstung), während ein stärkerer Myzelzuwachs herbeigeführt wurde, jedoch ohne merkliche Zunahme der Rhizomorphabildung.(2)

Dann wurden die ganzen Agar-Massen mitsamt den Pilzmyzelien herausgenommen und als Quer- oder Längsschnitte mikroskopisch gründlich untersucht. Diese wurden dann mit den am 28. Mai in gewöhnlicher Weise aus den gleichen Kulturen vor dem Zuckerzusatz herausgenommenen Agarstückchen verglichen, die, wie das Verhältnis N:C = 1:1 beweist, einen mittleren Kristallgehalt aufwiesen. Die Resultate lassen sich folgendermassen zusammenfassen:

1) Die Kristallmenge der betreffenden Kultur ist äusserst gering, sodass sie in gewissen Fällen (Stamm 92, 94) nicht mehr nachzuweisen ist.(3)

2) Wo die Kristalle noch übriggeblieben sind, beschränken sie sich fast nur auf diejenigen Stellen, die von der Myzelbildung noch

(1) Alle gebildeten Kristalle entsprechen den „Boden-“ und nicht den „Hyphenkristallen.“

(2) Die Bräunung der Nährböden schien sogar eher zugenommen zu haben.

(3) Es war auch kein Übergang zum monoklinen Monohydrat festzustellen (vgl. FREY-WYSSLING, S. 172, Abb. 71), weder hier noch bei allen anderen Fällen der Kulturen.

nicht erreicht wurden (meistens der Bodengrund) oder von derselben schon sehr früh, d. h. vor der Zuckerzugabe, erreicht worden waren, jetzt aber ohne Veränderung bleiben (wie z. B. die Stellen zwischen den gebildeten Rhizomorphen bzw. den Braunhäuten).

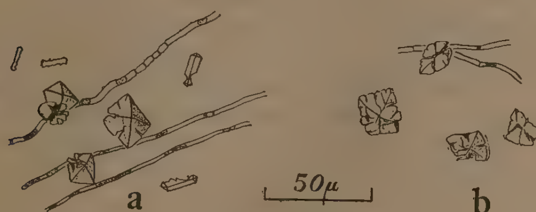


Fig. 13. **Korrosionsformen der Kalkoxalatkristalle aus dem Nährboden 95+Zuckerlösung (Nachversuch 2.).**
a. Stamm *Galeola*-Symbiont Nr. 1,
b. Stamm *Armillaria mellea* Nr. 90.

3) Die übriggebliebenen Kristalle beschränken sich nur auf die grösseren Formen (z. B. Form 2, 3, Q); sie weisen oft „eine Lösungsform" (Fig. 13) (1) auf; vor allem an denjenigen Stellen, wo das Bodenmyzel im Begriff ist, üppig zu wachsen. Die kleineren Formen (z. B. Form N, 1), welche vorher reichlich vorhanden gewesen waren, werden ganz aufgelöst.

4) In den Kontrollgläsern, welche keinen Zusatz von Zuckerlösung erhielten, wächst die Kristallmenge sogar etwas heran.

VIII. Betrachtungen über die Bildung und Wiederauflösung der Kalkoxalatkristalle bei Pilzen

Wie wir eben gesehen haben, wird die Kalkoxalatbildung durch Pepton befördert, durch Zucker hingegen vermindert. Nach den Literaturangaben sind aber die Bedingungen für die Säurebildung nicht übereinstimmend und die Andeutungen dafür auch sehr verwickelt, sodass wir, bevor wir auf eigene Ergebnisse eingehen, uns zuerst mit der historischen Skizze betreffs der Oxalsäurebildung beschäftigen müssen, um so mehr, weil dieses Problem von botanischer Seite fast übersehen worden zu sein scheint.

---

(1) Diese Formen weisen eine deutliche Reaktion auf Kalkoxalat auf (Reagenzien: Essigsäure, HCl und H_2SO_4).

1. Stämmliche Differenzen bei der Säurebildung

Pilze scheiden im allgemeinen verschiedene Formen von organischen Säuren aus. Diese Eigenschaft wird nicht nur durch Zusammensetzung der Nährböden, sondern auch durch verschiedenartige innere und äussere Faktoren beeinflusst: Als ersten Faktor kann man nach zahlreichen Forschern annehmen, dass sich bei verschiedenen Pilzarten, ja sogar oft bei verschiedenen Stämmen derselben Arten, Glukonsäure-, Citronensäure-, Oxalsäurebildner usw. (aus Zucker) unterscheiden lassen (vgl. z. B. BERNHAUER 1932 und 1936a). Dies ist besonders bei *Aspergillus niger* und *Penicillium*-Arten konstatiert worden, weil alle experimentellen Forschungen dieses Gebietes seit WEHMER (1891) fast allein diesen Arten gewidmet worden sind. Nicht selten wurden dabei auch andere stämmliche Differenzen mit Gewissheit wahrgenommen (WEHMER 1891b, S. 330/332, 353; EMMERLING 1903 und CURRIE und THOM 1915), wenngleich diese dann unglücklicherweise fast übersehen wurden. Es sind nämlich diejenigen Differenzen, welche wir hier als C- und N-Bevorzuger bezeichnen dürften.

Die „C-Bevorzuger“ bilden die Oxalsäure sowohl aus der C-Quelle wie Kohlehydraten, wie auch aus Aminosubstanzen wie Peptonen, während die „N-Bevorzuger“ die Säure nur aus Aminosubstanzen ausscheiden können. Die meisten *Aspergillus niger*-Stämme und einige *Penicillium*-Arten gehören zu den ersteren. Auf die letzteren, welche nur durch Desaminierung der Aminosubstanzen die Oxalsäure auszuscheiden vermögen (s. EMMERLING, CURRIE u. a. l. c.), ist bisher — vielleicht wegen ihres geringen Zusammenhangs mit der technisch wichtigeren Citronensäurebildung aus Zuckerarten — nur ganz beiläufig die Aufmerksamkeit gerichtet worden, obschon sie mehr als die C-Bevorzuger verbreitet zu sein scheinen (vgl. WEHMER 1891, S. 332). Die Verwirrung der Angaben zahlreicher Forscher betreffs der Säurebildung beruht hauptsächlich darauf, dass sie diese stämmlichen Differenzen nicht konstatiert hatten.(1)

Meines Wissens ist die einzige Angabe betreffs des N:C Verhältnisses der Nährböden bei der Säurebildung diejenige von CHRZĄSZCZ und

(1) Das Obengesagte lässt sich wie folgt zusammenfassen (Die Sternchen bedeuten noch nicht näher untersuchte Gebiete.)

- Organische Säurebildung
  - C–Bevorzuger
    - aus der C–Quelle
      - Glukonsäurebildner
      - Citronensäurebildner
      - Oxalsäurebildner
    - aus der N–Quelle
      - ?*
      - Oxalsäure(bildner)*
  - N–Bevorzuger .... (aus der N–Quelle)...
    - ?*
    - Oxalsäure(bildner)*

TIUKOW (1930). Sie entdeckten zwar, dass ein Citronensäurebildner (aus Zucker) *Penicillium X* (= *P. citrogenum*, vgl. diese Autoren 1931, S. 139) nur dann Oxalsäure bildet, wenn in der Nährlösung ein bestimmter Überfluss (über 1%) von Glykokoll in Bezug auf die C-Quelle (also N:C) vorherrschend war, scheinen aber unglücklicherweise die Ergebnisse missverstanden zu haben. Ihre Schlussfolgerung (S. 78) ist nämlich die, dass, weil die Oxalsäureanhäufung mit der zugesetzten Glykokollkonzentration nicht proportional wächst, sondern „schneller" zunimmt (1,5% Glykokoll geben 2,0 mal Oxalsäure, 2,0% Glykokoll geben 3,5 mal Oxalsäure), die Oxalsäure nicht aus Glykokoll, sondern aus Zucker entstanden sein muss. Sie haben aber dabei eine von ihnen selbst gefundene Tatsache übersehen, nämlich diejenige, dass Oxalsäure unter Glykokoll = 1% (nämlich 0,5 und 0,1% vgl. ihre Tabelle S. 78) nie gebildet wird, eine Menge, die für das Wachstum (bzw. die Bräunung usw.?) desselben Pilzes bei gegebenen Bedingungen (8% Zucker) unentbehrlich zu sein scheint. Wenn man also dieses Prozent (= ca. 0,6% Glykokoll nach meiner Rechnung) abzieht, so gewinnen wir:

aus Glykokoll:	gebildete Oxalsäure:
(1,0–0,6) = 0,4%	49,6 mg
(1,5–0,6) = 0,9%	97,2 mg
(2,0–0,6) = 1,4%	172,3 mg

Das Mengenverhältnis vom subtrahierten Glykokoll ist zufriedenstellend mit demjenigen der gebildeten Oxalsäure proportioniert, was darauf hindeuten muss, dass die Säure nur aus der vom Wachstum usw. übriggebliebenen Aminosäure entsteht,[1] wenngleich auch nicht unmöglich ist, dass sich der ökonomische N:C Verbrauch jeweils (nach Arten, Wachstumsperioden usw.) etwas verschiebt.

Erst anhand dieser Erklärung kann man meine Ergebnisse (Fig. 7k und 8) richtig erfassen. Die Oxalsäure bei *Armillaria mellea* sowie bei *Penicillium X* ist demnach durchaus als Desaminierungsprodukt der Aminosubstanzen wie Pepton bzw. Glykokoll anzusehen. Die genannten Arten sind also die „N-Bevorzuger" in Bezug auf die Oxalsäurebildung. Sie bilden die genannte Säure nicht aus Zucker.[2]

---

(1) Die nebenbei aufgetretene Citronensäure ist aber, wegen Unabhängigkeit von der gebotenen Aminosäure, durchaus als Produkt aus dem Zucker anzusehen (Maximum bei ca. 1,0–1,5% Glykokoll), was vielleicht darauf hindeutet, dass selbst der Zucker wegen gewisser anderer Minimumfaktoren, wie etwa Mangel an Stimulationsstoffen usw., schlecht ausgenützt worden ist (vgl. S. 438). Über die Frage, ob die Ausnutzung von Pepton von der Qualität der gebotenen C-Quelle abhängig ist, vgl. BUTKEWITSCH 1903, S. 215.

(2) Auch beim C-Bevorzuger (*Aspergillus niger*) konstatierte WEHMER (1891b, S. 345/6), dass die Menge der aus Pepton gebildeten Oxalsäure mit der dargebotenen Menge des letzteren fast proportional ist. Über den allgemeinen Desaminierungsprozess vgl. EHRLICH, NEUBAUER.

2. Beziehungen zwischen Säurebildungsvermögen und Ernährungsweise der Pilze

Die Ursache der obengenannten stämmlichen bzw. artspezifischen Differenzen ist natürlich schwer aufzuklären und meines Wissens noch nicht behandelt worden: andererseits stehen jedoch die diagnostischen Differenzen der Säurebildung auch mit der Ernährungsweise in engerem Zusammenhang; denn erstens sind die N-Bedürfnisse der Pilze je nach den Arten verschieden, sodass sie sich nach ROBBINS (1937) in 4 Gruppen einteilen lassen, nämlich in die N_2-, NO_3-NH_4-, NH_4- und organischen N-Pilze (Organismen),(1) zweitens ist aber die Rolle des Peptons als C- und N-Quelle oder nur als N-Quelle je nach den Pilzarten(2) auch sehr eigentümlich.

So vermag *Aspergillus niger* u. dgl. mindestens aus Nitrat + Zucker das Plasmaeiweiss aufzubauen, was voraussetzt:

i) Reduktion vom Nitrat zur Aminogruppe,
ii) Zerspaltung etc. vom Zuckermolekül zu den Säuregliedern von Aminosäuren.

Dass *Aspergillus niger* das Pepton (nämlich dessen Säureglied) als C-Quelle assimilieren kann (WEHMER 1891b, S. 294/5, 329 ff. und BUTKEWITSCH 1922b), erweist aber, dass der letztere Prozess (ii) umkehrbar ist. Es ist also auch nicht unmöglich, dass der genannte Pilz als C-Bevorzuger je nach den Umständen die Oxalsäure aus Zucker zerspaltet oder durch Desaminierung aus Aminosubstanzen produziert.(3)

Es könnte auch leicht angenommen werden, dass die Säurebildung aus Zucker nur in Gegenwart von denjenigen Zuckermolekülen statthat, die bei dem Eiweissaufbau übrigbleiben. Der Gedankengang stimmt mit dem von KOSTYSCHEW (1927) überein, wenngleich sich dieser Autor hauptsächlich mit der Citronensäurebildung beschäftigte. Er bezeichnet die Säure als „einen misslungenen Baustein der Eiweisstoffe". Die Säurebildung wird nach ihm durch eine geringe Dosis von Ammoniumsalz gereizt. Die Oxalsäurebildung aus Zucker setzt allerdings einen N-Mangel bzw. überhaupt gewisse schlechte Bedingungen für Eiweissbildung, wie Stimulationsstoffmangel, schlechte Temperatur etc., voraus, wie dies tatsächlich der Fall zu sein pflegt (vgl. SCHOBER 1930, KARDO-SYSSOJEVA 1933, BERNHAUER 1932, REED 1939 (Tomate)). Auch diese Erklärung macht uns verständlich, wann ein C-Bevorzuger aus Pepton und nicht aus Zucker die Oxalsäure freizumachen imstande ist und umgekehrt; wenngleich es auch nicht ausgeschlossen ist, dass der Organismus zuweilen die Säure gleichzeitig aus beiden Substraten bildet (vgl. S. 435 Anm. 1.).

---

(1) Die N_2-Pilze vermögen gleichzeitig alle folgenden N-Formen zu assimilieren usw. Über die Möglichkeiten der weiteren Einteilung der Organismen vgl. denselben Autor, S. 243 ff.

(2) Bei Leuchtbakterien vgl. die Angabe BEIJERINCK's, wonach sie sich in Pepton- und Peptonkohlenstoffbakterien einteilen lassen (zitiert aus MOLISCH S. 114/5 u. PFEFFER Bd. II, S. 857).

(3) Dass die Pilze im allgemeinen die organischen Stickstoffsalze besser als die anorganischen benutzen, beweist, dass der oxydative Desaminierungsprozess wie Aminosäure $\rightarrow (COOH)_2 + NH_3$ auch reversibel ist.

Auf die Hauptsache zurückkommend, ist es nun selbstverständlich, dass es Pilzen wie unserer *Armillaria mellea*, welche die Fähigkeit nicht besitzen, den anorganischen Stickstoff als N-Quelle und das Pepton als C-Quelle zu benutzen (Fig. 8 und Fig. 6 a/c), auch an der Fähigkeit fehlt, die Oxalsäure aus Zucker zu bilden. Die Differenz zwischen C- und N-Bevorzuger scheint also mit der Ernährungsweise (und somit mit dem Redoxsystem) in gewissem Zusammenhang zu stehen.

Wie kann man dann die Differenzen, die Glukonsäure-, Citronensäure- und Oxalsäurebildner (aus Zucker) erklären? KOSTYTSCHEW (auch vgl. BERNHAUER 1932, S. 89/90) zeigte, dass bei einunddemselben *Aspergillus niger*-Stamm die pH-Änderung das Säurebildungsvermögen umstimmen kann, und zwar stufenweise von der Citronensäurebildung (niedere pH) zur Oxalsäurebildung (höhere pH). Eine derartige Umstimmung soll nach KARDO-SYSSOJEVA (1933) u. a. auch durch Salzgehalt in der Hyphe bedingt werden. Es ist also möglich, dass die betreffenden Differenzen durch geringfügige Differenzen der Umbildungstendenz usw. beim obengenannten Eiweissbildungsprozess (ii) hervorgerufen werden.

Mit dieser Schlussfolgerung könnte man aber zwei Fälle bei den N-Bevorzuger unterscheiden, nämlich erstens diejenigen, eigentlichen N-Bevorzuger, die keine Form von organischen Säuren aus Zucker abscheiden, und zweitens diejenigen, welche andere Formen von organischen Säuren wie Citronensäure—nicht aber die Oxalsäure—aus Zucker auszuscheiden vermögen Dass *Penicillium X* (S. 435) zu den letzteren gehört, ist schon gesagt worden, während *Armillaria mellea* vielleicht ein eigentlicher N-Bevorzuger ist, weil sie den anorganischen Stickstoff (mindestens das Nitrat) nicht normal assimilieren kann.

Es bleibt aber die Möglichkeit, dass es zuweilen Pilze gibt, die irgendeiner Ursache wegen eine von den zwei Fähigkeiten bei der Eiweissbildung aus Nitrat plus Zucker, nämlich die Aminogruppe- bzw. Säuregliedbildung, verloren haben. Diese Pilze würden dann in Bezug auf die Ernährungsweise und Säurebildungsfähigkeit eine Mittelstelle zwischen *Aspergillus niger* und *Armillaria mellea* einnehmen. Weitere Studien der Pilzgruppen in dieser Hinsicht sind sehr wünschenswert.

3. Die Bedeutung der Oxalsäurebildung

Oben haben wir angeführt, unter welchen Umständen die N-Bevorzuger die Oxalsäure aus Aminosubstanzen produzieren und wann die C-Bevorzuger die Säure aus Zucker zerspalten. Beide Oxalsäure-Bildungsprozesse sind aber insofern prinzipiell ähnlich, als die Säure immer nur aus denjenigen (C- oder N-) Substanzen gebildet wird, die sich aus irgendeiner Ursache am Wachstum nicht beteiligen konnten. Die Oxalsäurebildung könnte also bei beiden Fällen gleich als ein überflüssiger, sozusagen auf einem Extravorgang des Pilzes, beruhender, vielleicht ein enzymatischer, Prozess bezeichnet werden. Die Pilze zeigen zwar bei der Säurebildung nicht nur eine Wachstumssistierung, sondern sogar oft eine Wachstumshemmung (Fig. 6 a/c; vgl. auch

CHRZASZCZ u. TIUKOW 1931, S. 140/3, BUTKEWITSCH 1922, S. 447/9).[1] Der Überschuss bestimmter Stoffe zwingt den Pilz zu einer unnötigen Tätigkeit, nämlich der Säurebildung.[2] Diese Erklärung weicht also im Wesentlichen von derjenigen gewisser Biochemiker ab, die die Säurebildung — nur deswegen, weil sie ein Oxidationsprozess ist — ausschliesslich im Zusammenhang mit der „Atmung" zu erklären versuchen (s. z. B. BERNHAUER 1932, S. 116).

Es wäre aber hier noch daran zu denken, dass sogar bei dem „Extravorgang" eine gewisse Leichtigkeit zu seiner Entstehung da sein könnte und sich deshalb der Vorgang mit dem normalen mischen könnte, was wohl durch Base wie Kalkzusatz fixiert werden kann,[3] wenngleich diese Leichtigkeit, hauptsächlich als Enzymtätigkeit, je nach den Pilzarten bzw. den Bedingungen wie Temperatur etc. auch verschieden im Grade auftreten kann. Daraus ist auch zu entnehmen, dass bei dieser Verschiebung ein Wirkstoffmangel eine grosse Rolle spielt. Die oft konstatierte Tatsache, dass die in der Kulturflüssigkeit einmal angehäufte Oxalsäure bei Kalkmangel wieder verschwindet (vgl. z. B. WEHMER 1891b, S. 401), wie auch die Angabe WEHMER's (l. c. S. 614, 637/8), dass Pilze eine Tendenz zur Oxalsäurebildung stets potentiell haben, sollten vielleicht auch in diesem Sinne verstanden werden.

Die angeführte These, dass die Säurebildung ein „Extravorgang" ist, soll auch bei verschiedenen Säurebildungen eine gewisse Allgemeingültigkeit haben, zum mindestens bei der „Citronensäuregärung" aus Zucker, wie dies schon von KOSTYTSCHEW konstatiert worden ist und auch sehr leicht daraus zu entnehmen ist, dass ihre Optimumbedingung bei der Zuckerkonzentration um ca. 15–25%[4] und bei pH um ca. 2,0 liegt, was beides für das Wachstum nicht notwendig ist, ja, sogar auf dasselbe hemmend einwirkt (vgl. BERNHAUER 1932).

4. Die Oxalsäure aus „Myzelsubstanzen"

Es gibt bezüglich der Entstehungsweise der Oxalsäure oft Angaben von etwas anderer Kategorie, obschon sie auch im wesentlichen je nach den Stämmen bzw. den

---

(1) Es ist konstatiert worden, dass bei der Oxalsäurebildung durch Desaminierung oft ein mit der gebildeten Säure fast äquivalentes Ammoniak entsteht (WEHMER 1891b, S. 437; BUTKEWITSCH 1903, S. 159); daraus ist auch zu entnehmen, dass das Pepton u. dgl. nur enzymatisch zerlegt worden sein kann. Es ist aber natürlich einleuchtend, dass der Prozess beim normalen Eiweissaufbaus aus Zucker plus Pepton eine gewisse wichtige Rolle, wie Umkonstruktion der Aminosäuren, spielt

(2) Es ist klar, dass es sich z. B. bei der Alkoholgärung, der Samenkeimung usw. auch um gewisse „Extravorgänge" handelt, weil bei den Pflanzen die Wärmebildung vielleicht ein überflüssiger Prozess ist. Die CO_2/O_2-Messung gibt also bei diesen Fällen für die reale Atmung keinen Masstab.

(3) Ein Kalküberschuss muss demnach in diesem Falle gewisse Nachteile aufs Wachstum herbeiführen, während er bei den sich „immer anhäufenden Bedingungen" ohne Nachteil bleiben kann, wennwohl der Überschuss immer eine unendliche Anhäufung der Säure als Kalksalz bedingt.

(4) Dabei wirkt ein Peptonzusatz ungünstig auf die Säurebildung, aber natürlich günstig auf das Pilzwachstum (vgl. BERNHAUER 1932, S. 90, 1936, S. 50).

Bedingungen einer der obenangeführten zwei Möglichkeiten betreffs der C- oder N-Quelle angehören, nämlich, dass die Oxalsäure in gewissen Fällen aus den Myzel-Einschlüssen wie reduzierendem Zucker usw. stammt, welche vorher einmal in das Myzel aufgenommen und dort aufgespeichert worden sind. Dies wurde meines Erachtens besonders sicher gestellt von ALLSOPP (1937), indem er die Methode „das fertige Myzel" (s. unten) anwandte und fand, dass die Oxalsäure vom angewendeten Myzel selbst in das destillierte Wasser hinausdiffundierte. Der Prozess steht demnach in gewissem Sinne auch mit „den schlechten Bedingungen" im Zusammenhang.[1] Meine vorliegenden Ergebnisse der Salzreihe, dass *Armillaria mellea* z. B. auf Ammoniumnitrat(1,5%)-Stärke-Boden (Nährboden 82) eine ziemlich reiche Menge von Kalkoxalatkristall ,ausscheidet, müssten vielleicht in diesem Sinne verstanden werden, weil sich dort nur ein sehr reduziertes bzw. fast kein Wachstum erkennen lässt. Es bleibt aber noch unerklärt, warum in unserem Falle dieselben Kristalle aus Stärke-Boden mit normaler Salzkonzentration (Orientierungsversuche, Nährboden 62) nie gebildet wurden. Um die tatsächlichen Gründe hierfür zu erkennen, wäre noch eine weitere Reihe von Versuchen durchzuführen.

5. Die weitere Ausnutzung der gebildeten Säuren

Bei Prüfung der Wirkung des Azetates auf die Citronensäure- und Oxalsäurebildung fanden CHRZASZCZ u. ZAKOMORNY (1936a, S. 344/5), dass die Nutzbarkeit des genannten organischen Salzes durch Zuckerzusatz sehr gesteigert wird (vgl. auch SCHOBER 1930, S. 99). Nach denselben Autoren (1936b, S. 348 ff.) soll ein Zusatz von Äpfelsäure auf Azetat den gleichen Einfluss ausüben wie Zuckerzusatz auf Azetat. BENNET-CLARK (1937, S. 590), indem er die Ergebnisse ALLSOPP's (1937, S. 349) von gleicher Kategorie in Bezug auf die Milchsäure und Oxalsäure(!)[2] zitiert, sagt, dass das nämliche Phänomen dem Umstand zuzuschreiben sei, dass die endothermische Umwandlung von Säuren in Kohlehydrate mit der exothermischen Auflösung von Glukose gepaart sei, ohne aber auf die Bedeutung dieser scheinbar ganz sinnlosen ,,Paarung" einzugehen. Meine Erklärung für dies Phänomen ist eine ganz andere als die seinige:

Da, wie man aus rein chemischen Gründen annehmen darf (vgl. auch S. 436 Anm. 3), eine Umkehrung vom Desaminierungsprozess sehr leicht statthaben könnte, müssten die gegebenen, organischen Säuren,

---

(1) Die Methode „das fertige Myzel" ist allerdings diejenige, die am stärksten durch die Natur der früheren Kulturen, aus denen die ganze gewachsene Myzeldecke aseptisch in die zu untersuchenden Lösung mit organischen Säuren, Zuckerarten usw. umgelegt zu werden pflegt, beeinflusst wird (vgl. z. B. LEONIAN 1936) und somit oft zu einer sehr grossen Fehlerquelle Anlass geben könnte.

Bei der Anwendung gennannter organischen Säuren etc.—um den näheren Mechanismus der Säurebildung zu verfolgen—pflegt es an anderen für das Wachstum unerlässlichen Nährelementen wie Salzen stets zu fehlen, was natürlich den N- etc. -Mangel herbeiführt.

(2) In Gegenwart von Glukose wurde die Glukon- und Citronensäure nicht verarbeitet; s. unten.

indem sie mit den vorhandenen Stickstoffverbindungen wie Ammonium bzw. Nitrat in Verbindung kommen, sich als Aminosubstanzen an dem Körperaufbau beteiligt haben, wobei natürlich der Zucker als aufbauender bzw. als Atmungsstoff konsumiert worden sein sollte.[1] Die gegebenen organischen Säuren neigen also dazu, sich wie Träger von Aminogruppen zu verhalten. Diese Annahme würde vielleicht auch für meine, beim Nachversuch 2 mitgeteilte Tatsache der Benutzung der Kalkoxalatkristalle eine bessere Erklärung als sonst liefern. Das Vorhandensein von organischen Säuren ist also sogar für *Armillaria mellea* eine Gelegenheit zur Benutzung der anorganischen Ammoniumverbindung, welche sonst vielleicht unbenutzt bleiben würde (Fig. 8 Salz-Reihe). In dieser Hinsicht könnte also das Kalkoxalat als eine Reserve bezeichnet werden, was physiologisch wie auch ökologisch eine gewisse Rolle spielt.

Ganz im Gegensatz dazu wirken andere Säuren, wie die oben erwähnte Äpfelsäure CHRZASZCZ's, als C- bzw. Energiequelle. Es wäre aber wohl nicht ausgeschlossen, dass z. B. einunddieselbe organische Säure bald als „N-Träger", bald aber, den obwaltenden Bedingungen und den Stämmen nach, für einunddenselben Organismus gleichzeitig als C-Quelle benutzt wird.

Allerdings gibt es mehrere Angaben für die Brauchbarkeit der freien Oxalsäure bzw. ihrer löslichen Salze wie Ammonium-, Natriumoxalate (vgl. WEHMER 1891a, S. 174; 1891b, S. 321/328, 611/15, etc.; CZAPEK Bd. III. S. 78; ALLSOPP 1937, S. 348).

Was dann das „unlösliche" Kalkoxalat anbelangt, so fand BASSALIK (1914), dass gewisse Bakterien, vor allem *Bacillus extorquens,* durch eine Enzymwirkung das Salz direkt korrodieren können. Für ihre Wirkung war der „Zucker" nicht nötig. Mehrere andere Autoren wie auch BASSALIK selbst neigen aber zu der Ansicht, dass das Salz für andere Pilze bzw. Bakterien unbrauchbar bleibt, ohne jedoch dabei eine nähere experimentelle Prüfung bzw. gewisse nötige Vorsichtsmassregeln anderen Nährelementen gegenüber wie der Kohlehydratquelle bzw. Salzen in Anwendung zu bringen, deren Vorhandensein erst die Benutzbarkeit des Kalkoxalats ergeben sollte. So besteht z. B. BASSALIK's Nährlösung nur aus Oxalat und anorganischen Salzen (vgl. auch CHRZASZCZ u. a. 1933b, S. 111). Es steht dennoch bei *Armillaria mellea* ganz dahin, ob nun bei ihr das Auflösen der Kalkoxalatkristalle nur durch „Massenwirkung", oder doch durch ein Enzym, welches nur beim Vorhandensein vom Zucker sezerniert wird,[2] bewirkt wird oder nicht.

---

(1) Dies setzt natürlich einen gewissen N-Mangel voraus.

(2) Vgl. diesbezüglich HANSEN 1889, S. 90; GORR etc. 1933, S. 96 ff. Das Kalkoxalat kann auch bei Kalkmangel (durch höhere Pflanzen) aufgelöst werden (vgl. PFEFFER Bd. I, S. 486/7; CZAPEK Bd. III, S. 77/78). Die Feststellung, dass sogar sonst unnützliches Kalkoxalat unter Umständen zur Benutzung gelangen kann, scheint mir auch für andere Ausscheidungsprodukte eine gewisse allgemeine Gültigkeit zu haben. So habe ich beobachtet, dass bei Sojasauce-Agar der zuerst aus dem Impfstück herausdiffundierte braune Farbstoff später verschwindet.

Oben habe ich bei der Oxalsäure gezeigt, in welchem Masse ein nutzloses Phänomen etwa statthaben kann, und wann ein „nutzloses" unter Umständen wieder nutzbar werden kann, ohne dass aber auf eine Allgemeingültigkeit, vor allem bei höheren Pflanzen, hingewiesen wurde.

Es ist ohne Weiteres klar, dass man alle vitalen Vorgänge nicht als nützlich auslegen darf. Unten werden solche Beziehungen im ganzen behandelt werden.

IX. Allgemeine Betrachtung der Ergebnisse

1. Zusammenhänge verschiedener kultureller Eigenschaften

Weil im vorliegenden Falle die Menge der Nährstoffe, die den Pilzen zur Verfügung stehen, eine begrenzte ist, ist es verständlich, dass die erfolgenden Reaktionen miteinander in gewisser Korrelation stehen. Diese Korrelation ist jedoch durch verschiedene Umstände mehr oder minder modifizierbar; leider kann jetzt nur sehr oberflächlich über dieselbe gesprochen werden, da wir bei fast keinem einzigen Falle der Reaktionen mit dem wesentlichen Mechanismus derselben vertraut wurden.

Äussere Bedingungen der Korrelationen. Am auffallendsten sind zuerst die korrelativen Verschiebungen der Reaktionen in Bezug auf die Nährböden. Es liegt kein einziger Nährboden vor, welcher für alle Reaktionen zugleich als bester angesehen werden könnte. So bevorzugt z.B. die Rhizomorpha- und Braunhautbildung vor allem den Sojasauce-Hefe-Boden (SH, Fig. 8), während dieser auf die Luftmyzelbildung nicht mehr so günstig wirkt. Dass aber die letztere Reaktion einen anderen Sojasauce-Agarboden, nämlich den getrockneten S-Boden bezorzugt (Fig. 8), weist daraufhin, dass sie auch ein gewisses Wuchsstoffbedürfnis hat, ebenso wie die Rhizomorpha- und Braunhautbildung(1). Es wäre daraus zu schliessen, dass bei frisch hergestellten Sojasauce-Agarböden wie SH- bzw. SI-Boden die Entstehungsleichtigkeit des Luftmyzels korrelativ unterdrückt worden ist. Die Tatsache, dass bei an Wuchsstoff armen Nährböden wie der pH-Reihe die Luftmyzelbildung, im Gegensatz zu den zwei anderen Wachstumsreaktionen, nicht sehr schlecht ist, spricht vielleicht dafür, dass das Wuchsstoffbedürfnis der erstgenannten Reaktion dennoch ein niedriges ist. Ein Peptonzusatz zum Sojasauce-Agarboden bewies dann, dass bei den wuchsstoffhaltigen Böden auch das N:C Verhältnis massgebend ist wie bei den synthetischen,

---

(1) Der an Wuchsstoff arme, harte Boden 5,0′ (Agar 4,5%) wirkt stets auf die drei Wachstumsreaktionen ungünstiger ein als der Boden 5,0 (Agar 1,5%).

was umgekehrt zeigt, dass sogar der Wuchsstoff erst dann zu voller Wirkung kommen kann, wenn das richtige N:C Verhältnis, oder, aller Wahrscheinlichkeit nach, überhaupt die richtigen sonstigen Bedingungen, wie z. B. Temperatur, pH, usw. gegeben sind (Minimumgesetz im weiteren Sinne). Auf alle Fälle wirkt ein höherer Peptonzusatz auf die Rhizomorpha- und Braunhautbildung ungünstig, nicht aber auf die Luftmyzelbildung (Fig. 6c), was darauf zu beruhen scheint, dass die Beständigkeit jeder Reaktion gegen höheres pH infolge der reichlichen Ammoniakbildung durch Desaminierung bei den höheren N-Dosen verschieden ist. Die Tatsache, dass beim pH = 8,0 Boden die Luftmyzelbildung, wie andere Wachstumsreaktionen, auch unterdrückt wird (Fig. 8), spricht andererseits dafür, dass bei den übrigen Böden das Luftmyzel wegen der Streckungsleichtigkeit der pH-Erhöhung vorangegangen sein muss. Dass ferner bei der Glukose-Pepton-Reihe die Luftmyzelbildung über C bzw. N = 1% nicht mehr gesteigert wird, weist darauf hin, dass dort die Wuchsstoffarmut eine Steigerung der Ausscheidungen als „Extravorgang" verursacht (vgl. S. 438 und unten) und somit trotz des reichlicheren Vorhandenseins von Nährstoffen (z. B. als S-Boden, s. Anhangstabelle) die Weiterentstehung des Luftmyzels verhindert, wenngleich die Wirkungsweise der Wuchsstoffe gegen einzelne Ausscheidungsreaktionen heute noch in der Hauptsache unklar ist (vgl. unten). Die Luftmyzelbildung erleidet also direkt oder indirekt die stärksten korrelativen Regulationen, was vielleicht auf ihre Unabhängigkeit vom N:C Verhältnis hindeutet (Fig. 7L). Zum mindesten bei unserem Pilze darf man sie also als ein „Hilfsorgan" bezeichnen, durch welches z.B. verschiedene Ausscheidungen bei ungünstigen Bedingungen leichter stattfinden können (vgl. S. 445/6). Bei den Wachstumsreaktionen ist es allerdings gewiss, dass bei ihren korrelativen Modifikationen die Wuchsstoffwirkung eine wichtige Rolle spielt, indem sie zwischen jenen bzw. zwischen diesen und den Ausscheidungen gewisse Modifikationen des Reaktionsgleichgewichtes z. B. infolge von Enzymbildung bedingt. Die dabei verursachten Modifikationen sind oft von qualitativer Natur (vgl. z. B. Nachversuch 1.)(1).

Alle Ausscheidungsreaktionen stehen naturgemäss mit diesen Wachstumsreaktionen in gewissen Korrelationen; dennoch werden sie durch Kulturbedingungen anders wie Wachstumsreaktionen beeinflusst. Je reichlicher nämlich das Pepton gegeben wird, desto günstiger wirkt

(1) Die Frage betreffs des Wuchsstoffes wird später im Zusammenhang mit den Rhizomorphaformen usw. wieder diskutiert werden.

es auf die Bräunung und Oxalsäurebildung, von denen die letztere stärker als die erstere von dem N:C Verhältnis abhängig ist. Die übrigen Ausscheidungen, nämlich das Leuchten und die Guttation, verhalten sich in Bezug auf das N:C Verhältnis, ganz gleich. Beide erreichen ihre Maxima bei ca. N:C = 1:1, wo die Rhizomorphabildung schon ihr Maximum überschritten hat und die Kristallbildung im Fortschreiten begriffen ist. Warum diese Vorgänge, wie auch die Bräunung und das Leuchten sich ganz verschieden verhalten, ist noch unklar, obgleich wir uns im letzteren Falle vorstellen können, dass die oxydierenden Stoffe und die Oxidationsmittel (z. B. das Enzym), oder sogar beide verschieden sind. Auch ist es noch ganz unklar, ob die Oxidation beim Leuchten intrazellular stattfindet, bei der Bräunung aber völlig extrazellular oder nicht.

Allerdings ist es allen Ausscheidungen gemeinsam, dass sie, wie schon bei der Oxalsäurebildung beobachtet wurde, nur dann statthaben können, bzw. erst dann üppig zu werden vermögen, wenn die organische Stickstoffquelle für die Körperbildung schon im Übermasse vorhanden ist. Somit könnten wir also sagen, dass alle Ausscheidungen „Extravorgänge" in unserem Sinne sind, wenngleich sie ausser der Oxalsäurebildung vielleicht der gewissen Leichtigkeit ihrer Entstehung wegen unter allen Kulturbedingungen mehr oder minder auftreten können, und das Leuchten und die Guttation zudem auch wegen gewisser Beschränkungen der Faktoren bei den stärkeren N-Dosen verhindert zu werden pflegen (Fig. 7 l und g).

Innere Bedingungen der Korrelationen. Auch hier weiss man noch nicht, worauf die inneren Bedingungen beruhen, und wir müssen uns vorerst nur an die Tatsache halten, dass die Differenzen derselben, vor allem die stämmlichen, korrelativen Verschiebungen der Reaktionen hervorrufen können. Die Erfolge sind natürlich sehr einfach. So weist der Stamm *Armillaria* 105 aus den gleichen Mengen Nährstoffen, welche ihm zur Verfügung stehen, stets reichlichere Körperbildungen (vor allem Rhizomorphabildung), aber ein reduzierteres Leuchten sowie entsprechend reduziertere Bräunung als andere Stämme auf, die sich dann ihrerseits in der luftmyzelbildenden, leuchtenden und bräunenden Fähigkeit voneinander unterscheiden (Fig. 10). Der Stamm *Gastrodia*-Symbiont nimmt dabei einen besonderen Platz ein: er zeigt sehr reduzierte Körperbildungen, sowie ausser der Bräunung entsprechend reduzierte Ausscheidungen. Diese den Stämmen eigene Veranlagung scheint sehr beständig gegen äussere Bedingungen zu sein und ist demnach durch Nährstoffe nur schwer, wenn auch nicht ganz (vgl. S. 426), beeinflussbar. Etwaige Differenzen der Wuchsstoffbedürfnisse

jedes Stammes könnten auch wohl dabei mitwirken, die z.B. die Körperbildung erleichtern und somit die Ausscheidung aus gleichen Nährstoffmengen verzögern(1).

Wie werden dann bei Stämmen die einzelnen Reaktionen miteinander kompensiert? Theoretisch sollen die Bräunung und die Kristallbildung sich umgekehrt zueinander verhalten, weil beide Ausscheidungen ebenfalls durch Pepton verursacht werden. In der Tat scheint es sich teils so zu verhalten, denn die starke Bräunung (z. B. beim Stamm *Gastrodia*-Symbiont, s. Fig. 10) hemmt anscheinend die Kristallbildung. Das Umgekehrte gilt aber nicht. Es steht demnach noch dahin, ob dies z. B. auch durch eine Differenz der Leichtigkeit, mit der die Bräunung oder die Kristallbildung bei gegebenen Bedingungen stattfinden, bedingt worden ist, oder nur auf irriger Voraussetzung beruht. (Die Oxalsäure entsteht z. B. aus dem Desaminierungsanteil des Peptons, während die Bräunung einem anderen Anteil desselben ihre Entstehung verdankt.) Das Gleiche gilt auch vom System Rhizomorphabildung-Bräunung.(2) Man könnte aber mit Sicherheit sagen, dass die stämmlichen Differenzen, die auf einer Differenz der Enzymbildung usw. beruhenden, quantitativ korrelativen Modifikationen sind (vgl. S. 425 ff.)

2. Wirkungsweise der Wuchsstoffe auf *Armillaria mellea* und *Armillaria Matsutake.*

Wie Nachversuch 1. zeigt, wird die Form der Rhizomorpha durch die Sojasauce und Hefe in ganz verschiedener Weise beeinflusst und ihre Bildung selbst durch die erstere stark gefördert. Die Hefe enthält also einen „Formstoff" zur Subterranea-Form, während die Sojasauce einen Bildungsstoff für Rhizomorpha und einen Formstoff zur Subcorticalis-Form enthält. Nach FRIES (1938) sollen verschiedene Pilze jeweils verschiedene Wuchsstoffbedürfnisse zeigen, die notwendigerweise von aussen, z. B. von den Bakterien, geliefert werden müssen. Aus diesen Tatsachen dürfte man indessen schliessen, dass die verschiedenen Pilzauszüge verschiedene Wuchsstoffe enthalten.(3) Die Subcorticalis-Form von

(1) FRIES (1938, S. 105) beobachtete aber, dass ein Aneurin-Überschuss, der sogar aufs Wachstum von *Polyporus annosus* günstig einwirkt, auch den Pilz zur Bräunung von Ammoniumtartrat-Glukoselösung veranlasst, was vielleicht anzeigt, dass der Pilz noch gewisse anderen wachstumsbegrenzenden Faktoren bzw. gewisse Ungleichgewicht wie bezüglich N:C beherrscht hatte.

(2) Über die etwaige Korrelation zwischen Säurebildung und Sporenbildung, bzw. -farben bei Schimmelpilzen s. BERNHAUER 1932, S. 83/84; 1936, S. 49.

(3) Ich weiss nicht, ob dies mit der Behauptung von FRIES, dass die verschiedenen Wuchsstoffbedürfnisse auf einer Fähigkeitsdifferenz der Wuchsstoffbildung der betreffenden Pilze beruhen, in Widerspruch steht oder nicht.

Rhizomorpha scheint also durch den gewissen Wuchsstoff in der Sojasauce, einem Brauprodukt, und die Subterranea-Form durch einen anderen Wuchsstoff in der Hefe bewirkt zu werden (vgl. auch S. 431, Anm. 1). Das Zwiebeldekokt (auch Kartoffeldekokt?) übt dabei, positiv wie negativ, fast keinen Einfluss aus (vgl. auch KITAJIMA).

Es würde interessant sein zu vergleichen, in welchem Grade diese Wuchsstoffe wie auch die Pflanzenauszüge auf andere Pilze eine Wirkung ausüben. Ich möchte hierauf unten an dem Beispiel von *Armillaria Matsutake* kurz eingehen.

Dass dieser Pilz besonders den Honig-Hefe-Boden (oder Zucker-Hefe-Boden) bevorzugt, hat schon meine Anmerkung auf S. 427 gezeigt. Das reine Zucker-Agar veranlasst auch ziemlich gutes Wachstum, wenngleich dasselbe sehr langsam ist. Die Bildung der etwas gelblichen Myzelrasen auf der Agaroberfläche, die oft radiale, vom Impfstück aus nach der Wachstumsrichtung hin weiterstrahlende Runzeln aufweisen, kommt frühestens erst nach einigen Monaten vor. (Das Pilzwachstum im Bodeninnern fand nur sehr schwer statt, vielleicht wegen des besonders grossen Sauerstoffbedarfs). Die Langsamkeit des Wachstums, vor allem bei Wachstumsbeginn, ist von FRIES auch bei *Lenzites sepiaria* (FRIES, S. 112) beobachtet worden, ohne aber von demselben näher erklärt zu werden.

Im Gegensatz zu *Armillaria mellea* zeigt dann *Armillaria Matsutake* auf Nährböden wie Sojasauce-Agar (mit Zwiebeldekokt) oder Kartoffel-Agar eine merkliche Wachstumshemmung. Aus dem grössten Impfstück von ca. 1 × 1 cm wuchs der Pilz auf diesen Nährböden nicht weiter, eine hemmende Wirkung, die durchaus vom Zwiebel- bzw. Kartoffeldekokt stammen muss. Die Wirkungsweise der Wuchsstoffe oder Hemmungsstoffe scheint also viel komplizierter zu sein, als FRIES annimmt (vgl. UMRATH 1939).

3. Die Aufgabe der Ausscheidungen

Gewisse Ausscheidungen sind die Endprodukte des normalen Stoffwechsels, während die anderen als Folge der je nach den Kulturbedingungen auftretenden, überflüssigen Stoffumänderungen, nämlich als „Extravorgänge", nebenbei auftreten. Die in der vorliegenden Arbeit behandelten Ausscheidungen gehörten alle zu diesen letzteren (S. 443). Diese Vorgänge können aber beim Leben des Pilzes im Freien als ein Regulierungsmittel dienen, weil dort z. B. unter Umständen in Bezug auf die Eiweissverbindngen ein gewisser Überschuss vorhanden sein könnte, welcher das unrichtige N:C Verhältnis herbeiführt und somit das Pilzwachstum in einem starken Ausmasse verhindert. Das Vermögen des Pilzes, diese Stoffe auszuscheiden, scheint somit sehr zweckdienlich zu sein, wenngleich im Reagensglas dasselbe oft, der Anhäufung des Exkretes wegen, sogar eine Hemmung zur Folge hat, wie es bei der Desaminierung des Peptons der Fall ist. Nicht bloss bei Stoffüberschuss, sondern auch bei Stoffmangel (z. B. bei Glukosemangel,

welcher ein höheres N:C hervorruft) wird der Pilz zu einer lebhaften Ausscheidung veranlasst, wodurch sich die günstigen Stoffwechselvorgänge herleiten. Die Pilze müssen die gegebenen Bedingungen verbessern, und zwar so schnell wie möglich, um somit bei der Konkurrenz mit anderen Organismen die Oberhand zu bekommen. Im Freien sollte demnach ein Organismus desto besser gedeihen, je reichlicher ihm diese Regulierungsmittel zur Verfügung stehen(1).

Diese Ausscheidungen, nämlich die Regulierungsmittel der Pilze, könnten aber dann bei mehreren symbiotischen Korrelationen (im weiteren Sinne) in verschiedener Weise, wie etwa stofflich, enzymatisch usw., durch andere Organismen modifiziert bzw. reguliert werden. Die Bedingung zur konjunktiven Symbiose, wie z.B. Temperaturwechsel bei der *Galeola*-Mykorrhiza (vgl. HAMADA S. 204), sowie überhaupt die Erzeugungsoptima jeder Reaktion (vgl. Tab. IV und VI), würden auch durch nämliche Beziehung erfüllt werden. Dass dieses auch vom Innern der *Galeola*-Wurzel gilt, wird im folgenden Kapitel kurz gesagt werden.

X. Betrachtungen über die Existenzbedingungen des Pilzes in der Pilzwirtsschicht von *Galeola septentrionalis* (vgl. HAMADA 1939)

Um die obige Frage zu beantworten, wäre naturgemäss erforderlich, die Pilzwirtsschicht von *Galeola septentrionalis* (Aussenrinde der Wurzel) als einen Nährboden anzusehen, wenngleich dieser, örtlich wie jahreszeitlich, diejenigen stofflichen Modifikationen bzw. Temperatur- und andere Schwankungen aufweist, die natürlich auf die Pilzreaktionen modifizierend einwirken sollen, aber dennoch in vorliegender Arbeit nicht behandelt wurden.

Selbst wenn wir einmal all diese Faktoren ausser Acht lassen, bleibt doch noch derjenige Umstand bestehen, dass der Pilz von aussen Nährstoffe herbeischafft. Das System, welches jetzt zu behandeln ist, ist demnach nicht ein „geschlossenes", wie es bei den künstlichen Kulturen der Fall war, sondern ein „offenes", durch verschiedene Aussenbedingungen direkt oder indirekt angreifbares Lebenssystem, welches jedoch kaum näher analysierbar ist. Es ist nur gewiss, dass die vorhandenen Substanzen, sofern es sich um brauchbare handelt, dabei beteiligt sind. Bei der jetzigen, völligen Unkenntnis der Menge dieser Substanzen wird man auch leider zu keinem Anhaltspunkt kommen, aus dem wir eine sichere Schlussfolgerung auf die Menge der angeführten Substanzen ziehen

(1) Nach NAKAMURA (1939) soll das Luciferin bei *Micrococcus phosphoreus* an Stelle der Katalase auf Hydroperoxyd entgiftend wirken.

könnten (vgl. S. 417/8). Ich begnüge mich deshalb heute nur damit, auf Grund der dort gebildeten Pilzkörper und ihrer „Exkrete" ein Urteil über den Gesundheitszustand des Pilzes während und nach der Infizierung zu geben.

1. In der „b"-Schicht der Pilzwirtsschicht (s. HAMADA S. 168) ist der Pilz ziemlich gesund. Dort werden mehr oder minder üppige „intraradicale Rhizomorphen" gebildet, was das Vorhandensein gewisser Wuchsstoffe andeutet, ohne dass wir aber Näheres darüber wissen, ob diese von aussen (z. B. von Bakterien) eingeführt werden oder nicht. Das Aussehen der intraradicalen Rhizomorphen ist nie runzlich, wie es im vorliegenden Falle als Subcorticalis-Form bezeichnet worden ist, sondern meist rundlich, also zur Subterranea-Form gehörig. Anatomisch weisen diese Rhizomorphen aber nie die typische Subterranea-Form auf, denn die Entwicklung der sklerenchymatischen Markschicht ist im allgemeinen sehr schlecht oder findet überhaupt nicht statt, man kann höchstens eine braune Hautregion bemerken (vgl. Fig. 3 und HAMADA 1939, Taf. II, Fig. 1, 2, 3 und 8). Die intraradicale Rhizomorpha stellt also einen Zwischencharakter zwischen subterraner und subcorticaler Rhizomorpha dar, wie er z.B. bei der Glukose-Pepton-Reihe bzw. beim Kartoffel-Agarboden getroffen wurde, und die Bildung von braunem Farbstoff lässt uns ein ziemlich viel höheres N:C Verhältnis annehmen (Tab. VII, vgl. auch Tab. IX b), ohne aber die wirkliche Menge von Kohlehydraten bzw. Pepton zu zeigen, welche sogar bei demselben Verhältnis auf die Form von Rhizomorpha regulierend einwirkt (Tab. VIIa). Ein reichliches Kohlehydrat macht z. B. die Form etwas flach, wie diese oft in der Pilzwirtsschicht angetroffen wird (HAMADA, Taf. II Fig. 8). In der b-Schicht ist also die Bedingung ziemlich veränderlich. Es ist nur gewiss, dass der Zustand der Schicht für den Pilz lediglich insofern gut ist, als dadurch derselbe nie zur Bildung der typischen Subcorticalis-Form kommt, die sich als reiner Selbsternährer verhält.

2. In der „a"-Schicht der Pilzwirtsschicht, wo zumeist nur einige einzelne Hyphen gebildet werden, ist die Bedingung für den Pilz viel schlechter als in der b-Schicht. Der Pilz lässt die Wirtszelle oft braun verfärben und sezerniert in dieselbe eine reichlichere Menge von Kalkoxalatkristallen. Aus dem letzteren kann man sehr leicht schliessen, dass das N:C Verhältnis in der a-Schicht mindestens einmal dasjenige von 1:4 weitgehendst überschritten haben muss, und zwar während der aktiven Zeiten (Fig. 14). Dies ist nichts anders als eine Regulie-

rungswirkung des Wirtes durch Eiweisssubstanzen, die in der a-Schicht reichlich vorhanden zu sein scheinen (HAMADA, S. 177). Die Rhizomorphabildung in den anderen Pilzwirtsschichten als der b-Schicht scheint auf solche Weise zurückgehalten worden zu sein. (In Bezug auf Differenzen der Verholzungsreaktion zwischen der a- und der b-Schicht vgl. HAMADA, S. 168).

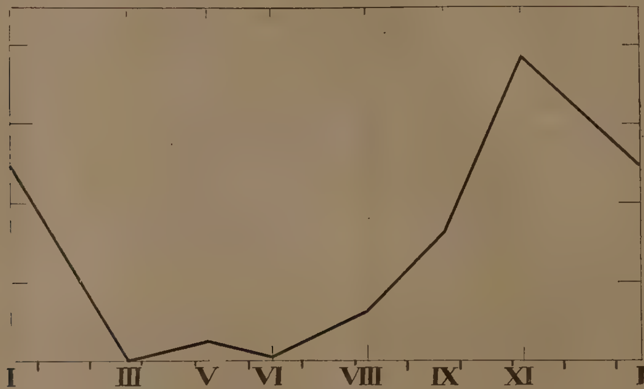


Fig. 14. **Jahreszeitliche Schwankungen des Gehaltes der Kalkoxalatkristalle in der Pilzwirtsschicht von *Galeola septentrionalis*.** Abszisse: III = 24. März; V = 9. Mai; VI = 15. Juni; VIII = 6. August; IX = 22. September; XI = 9. November 1936 und I = 16. Januar 1937 (Materialien aus Kuramayama und Kibuneyama bei Kyoto, vgl. HAMADA 1939, Tab. VII, S. 175). Ordinate: der Kristallgehalt im Vergleichsmasstab von 0–4. Mittelwerte aus den Pflanzenteilen Nr. 2, 3, 5 und 6 (verpilzte Teile der Kurz- und Langwurzel. vgl. HAMADA 1939, Fig. 14, S. 174). Die Verpilzung vor Juni ist durchaus auf diejenige des Vorjahres zurückzuführen, wo auch eine grosse Kristallmenge vorhanden war, wie im November.

Während der Ruheperiode verschwinden allmählich die einmal angehäuften Kristalle. Mit grösster Wahrscheinlichkeit ist anzunehmen, dass dies, wie schon erwähnt, nicht durch den Wirt, sondern durch den Pilz selbst bewirkt worden ist, weil der Pilz dort allerdings über den Wirt eine Oberhand hat. Es muss demnach als sicher angesehen werden, dass der Pilz während des Winters mit Hilfe von gewisser, noch aktiv bleibender Enzym- usw. -Wirkung und einer Menge Kohlehydrate die Kristalle umarbeitet. Es steht aber noch ganz dahin, woher diese Kohlehydrate geliefert werden. Der Umstand, dass auch die Stärke im Wirtsgewebe (echte Rinde) während des Winters verschwindet (Verzuckerung, etc., HAMADA, S. 189, Fig. 21), scheint damit in einem gewissen Zusammenhang zu stehen.

Aus dem Vorhergesagten könnte man sich vorstellen, dass ein „C-Bevorzuger", der die Kristalle aus Kohlehydraten wie auch aus Aminosubstanzen bilden kann, sich

beim Wiederauflösen der Kristalle anders verhält als unser Pilz. Es mag sich dabei um eine strikte „Wasserscheide" bezüglich des N:C Verhältnisses handeln, wo kein Kristall mehr auftritt oder wo der einmal gebildete Kristall wiederaufgelöst wird.



Fig. 15. Kalkoxalatkristalle aus der Pilzwirtsschicht (Aussenrinde der Wurzel) von *Galeola septentrionalis*.

a. W-, Q- etc. -Formen und Korrosionsformen (oben) aus dem Material vom 9. November 1936,

b. Korrosionsformen aus dem Material vom 16. Januar 1937 (Formen vgl. Fig. 4).

Sind nun die höheren Pflanzen wie *Galeola* C-Bevorzuger oder nicht? Vermag der Wirt, im Gegensatz zu dem Obengesagten, zuweilen den Kristall wirklich wiederaufzulösen oder nicht? Diese Fragen stehen jetzt noch völlig offen.

Fig. 14 zeigt, dass die Anhäufung der Kalkoxalatkristalle in der Pilzwirtsschicht Hand in Hand mit der Pilzaktivität geht und beim Aktivitätsende (November) ihr Maximum erreicht. Die Kristalle weisen aber in diesem Monat wie beim Nährboden (Fig. 13, S. 433), oft eine Auflösungsform (Fig. 15) auf,(1) wobei auch gleichzeitige Auflösung der Stärke im Wirtskörper erfolgt.

Die Kristalle werden bei der „temporären Verpilzung" (HAMADA, S. 161) oft in der b-Schicht gebildet. Ihre Formen sind oft sogar schon in den benachbarten Zellen verschieden, wenngleich die Form B überwiegt (s. unten). In einem Fall (Nr. 6, Januar 1937) war die Kristallanhäufung nur auf diejenigen Zellen beschränkt, die sich nicht braun verfärbten. Dies alles zeigt, dass die Bedingungen zur Kristallbildung zeitlich wie örtlich sehr veränderlich sind. Hierdurch ist die Vermischung verschiedener Formen der gebildeten Kristalle zu erklären.

Die in der Pilzwirtsschicht von *Galeola septentrionalis* gebildeten Formen von Kalkoxalatkristallen (Pflanzenteile: Nr. 2 ,3, 5 und 6, 1936/7(2)

Form:	B	2	3	1	Q	F″(3)	F′	W(4)	F	N
Beobachtungsfälle:	16	12	8	8	5	4	3	3	2	1

(Formen s. Fig. 4)

Die Schlussfolgerung dieses Kapitels ist, dass der Pilzsymbiont *Armillaria mellea* sich selbst in seiner Pilzwirtsschicht (sogar in der

(1) Z. B. bei Nr. 5. Nr. 5 entspricht dem Spitzenteil der verpilzten Langwurzel; Nr. 6 dem Mittelteil derselben Wurzel (vgl. HAMADA, S. 175, Tab. VI).

(2) Pflanzenteile vgl. HAMADA S. 174/175.

(3) Form F″: gespannte Fächer- bis Halbsphärit-Form; vielleicht durch Weiterwachsen der Form F verursacht, weil es oft Übergangsformen zwischen dieser und jener gibt.

(4) Form W: meist formlose Aggregate, die in verschiedenen Graden in die Form B übergehen.

b-Schicht) nicht ganz willkürlich verhalten kann. Er wird durch den Wirt in verschiedener Weise reguliert, und zwar dadurch, dass dieser in seinem Verhalten während einiger Monate oft sehr veränderlich ist. Die gebildeten Kristalle können nämlich bald aufgelöst werden, bald aber weiter wachsen, was bei den Kristallen eine kernreiche Form wie die Form B herbeiführt (s. oben).

Aus Obigem kann man leicht ersehen, warum der Pilz bei Beginn der Infektion so zaudert, sodass er nicht sofort die intraradicalen Rhizomorphen bildet, sondern meist zuerst eine temporäre Verpilzung aufweist. Dies wird oft einige jahrelang wiederholt, jedes Mal mit frischer Macht, bis endlich die Wirtszellen geschlagen werden. Dabei soll die Stärke des äusseren Pilzkörpers massgebend sein (vgl. HAMADA S. 161 und 164). Das alles ist eigentlich eine Folge des schlechten N:C Verhältnisses in der a-Schicht während der aktiven Zeiten (vgl. HAMADA S. 202 ff.). Das ist also eine Form von Immunität.

XI. Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit umfasst die Resultate ernährungsphysiologischer Untersuchungen an 9 Stämmen von *Armillaria mellea*, einschl. der Symbionten von *Galeola septentrionalis* (3 Stämme) und *Gastrodia elata* (1 Stamm) sowie einige Erklärungen in Bezug auf die Umstände in der Pilzwirtsschicht der *Galeola*-Wurzel.

1. 11 Pilzeigenschaften wurden untersucht, und zwar:

   1) Rhizomorphabildung
   2) Rhizomorphaformen
   3) Rhizomorphafarben
   4) Braunhautbildung
   5) Luftmyzelbildung
   6) Leuchten
   7) Bräunung von Nährböden
   8) Guttation der Flüssigkeit auf dem Luftmyzel
   9) Farben der Guttationsflüssigkeit
   10) Kalkoxalatkristallbildung
   11) Formen der Kalkoxalatkristalle

Diese 11 Eigenschaften wurden in „Wachstums-“ und „Ausscheidungsreaktionen“ eingeteilt.

2. Die Wachstumstätigkeiten bevorzugen Dekokt-Nährböden, vor allem Sojasauce-Agar. Die Ausscheidungreaktionen treten auf den synthesierten Nährböden wie Glukose-Pepton-

Agaren, welche diese beiden Substanzen in verschiedenen Verhältnissen enthalten, sehr gut hervor. Die reinen Glukose- bzw. Pepton-Böden sind im allgemeinen für das Auftreten aller Eigenschaften am ungeeignetsten (Orientierungsversuche).

3. Unter den Wachstumsreaktionen verhalten sich die Rhizomorpha- und Braunhautbildung sehr ähnlich und hängen stark vom N:C Verhältnis der zugesetzten organischen Nährelemente (z. B. Pepton und Glukose) ab. Ihre Maxima liegen bei N:C = ca. 1:4. Die Luftmyzelbildung zeigt aber keine Abhängigkeit von diesem Verhältnis und wird bei grösserem N- oder C-Zusatz weder gefördert noch gehemmt (Fig. 6 und 7).

4. Unter den Ausscheidungsreaktionen werden das Leuchten, die Guttation und die Kalkoxalatkristallbildung in verschiedener Weise vom N:C Verhältnis beeinflusst; für das Leuchten und die Guttation liegt das Maximum zwischen N:C = 1:2 und 2:1, also bei ca. 1:1; die Kristallbildung tritt stets über Pepton: Glukose = 1:4 auf.

Die Bräunung von Nährböden bezieht sich auf die absolute Menge von Pepton und scheint auf dessen Oxidation zu beruhen. Das N:C Verhältnis steht in fast keinem Zusammenhang mit dieser Eigenschaft (Fig. 6 und 7).

5. Form und Farbe der Rhizomorphen werden am stärksten durch Hefe und Sojasauce beeinflusst. Die erstere veranlasst eine schwarze, rundlich-glatte Form-Subterranea, während die letztere eine weissliche, flach-runzelige Form-Subcorticalis hervorbringt. Die Sojasauce verdeckt die Wirkung der Hefe gänzlich, sogar die Membranverdickungswirkung der letzteren (Nachversuch 1.). Die Form und die Farbe der Rhizomorphen stehen auch wahrscheinlich mit anderen Umständen, wie der C oder N Menge bei der Form, sowie dem N:C Verhältnis usw. bei der Farbe, in Zusammenhang (Tab. VII und IX).

6. Die Farbe der Guttationsflüssigkeit wie auch die Bräunung der Nährböden werden nur durch das Pepton stark bewirkt (Tab. VIII und Fig. 6 u. 7). Die Ursachen hierfür sind also andere als bei der Färbung von Rhizomorpha.

7. Näher betrachtet, ist das Verhalten aller untersuchten Eigenschaften fast stets voneinander verschieden, ausser dass sie in grossen Zügen durch Bevorzugung von C bzw. N sich wirklich in aufbauende und ausscheidende Tätigkeiten einteilen lassen (Tab. IV und VI).

8. Es gibt auch mehr oder minder abweichende stämmliche Charakterzüge in Bezug auf alle diese Reaktionen. Diese lassen sich z. B. in die rhizomorphabildenden, luftmyzelbildenden, leuchtenden etc. Stämme unterteilen. Die Symbionten von *Galeola septentrionalis*

und *Gastrodia elata* besitzen die Eigenschaften von *Armillaria mellea* in gemischten Verhältnissen—eine Bestätigung, dass die Symbionten alle zu *Armillaria mellea* gehören (Fig. 10).

9. Die Formen der in den Nährböden oder auf den Hyphen gebildeten Kalkoxalatkristalle hängen stark von den Peptonmengen, welche den Nährböden zugesetzt wurden, ab. Eine grössere Menge dieses Stoffes, also eine günstige Bedingung zur Kristallbildung, lässt die Pyramidenformen wachsen, während eine geringere Menge desselben die Bildung von Prismaformen veranlasst. (Fig. 9).

10. Bei *Armillaria mellea* beruht die Kristallbildung auf Desaminierung des Peptons. Der Zucker befördert dagegen, selbst bei einer grösseren Menge — im Gegensatz zu den wohluntersuchten Schimmelpilzen — die Kristallbildung nicht; er wirkt vielmehr auf die einmal gebildeten Kristalle auflösend. Ein Zusammenhang zwischen Kristallbildung und Ernährungsweise der Pilze wurde diskutiert (Nachversuch 2. und Kapitel VIII).

11. Die Differenzen von *Armillaria mellea* und *Armillaria Matsutake* bezüglich des Wuchsstoffbedürfnisses wurden auch diskutiert (S. 444).

12. Die Ausscheidungsreaktionen sind alle mit den wesentlichen Lebensvorgängen nicht eng verknüpft und werden meist nur durch die „Extravorgänge" des Pilzes durch überflüssige Stoffen (hier meist durch überflüssiges Pepton) gebildet. Sie können jedoch unter Umständen dem Organismus als Regulierungsmittel bei schlechten Bedingungen im Freien dienen (S. 445).

13. Auf Grund der Analyse der Reaktionen wurde der Zustand des Pilzsymbiontes in der Pilzwirtsschicht von *Galeola septentrionalis* diskutiert und festgestellt, dass der Pilzsymbiont sogar in seiner Pilzwirtsschicht nicht ganz gesund leben kann und durch den Wirt eine weitgehende Regulierung erfährt (Kapitel X).

XII. Literatur

Allsopp, A., 1937, The Formation of Oxalic Acid by Aspergillus niger. New Phytolog. **36** (327).

Anderson, R. S., 1936, Studies on Bioluminescence. II. The Partial Purification of *Cypridina* Luciferin. J. Gen. Physiol. **19** (301).

Ballner, Fr., 1907, Ueber das Verhalten von Leuchtbakterien bei der Einwirkung von Agglutinationsserum und anästhesierenden chemischen Agentien, nebst Bemerkungen über Pflanzennarkose. Zentbl. f. Bak. II. **19** (572).

Barrenscheen, H. K. & Prinz H., 1936, Über Melanogen und Melanin. Bioch. Ztschr. **285** (130).

BASSALIK, K., 1914, Über die Verarbeitung der Oxalsäure durch *Bacillus extorquens*. Jahrb. f. wiss. Bot. **53** (255).

BAVENDAMM, W., 1936, Erkennen, Nachweis und Kultur der holzverfärbenden und holzzersetzenden Pilze. Handb. biol. Arbeitsmethod. (ABDERHALDEN). Abt. XII. T. 2. H. 7 (Lief. **457**).

BENNET-CLARK, T. A., 1937, Organic Acids of Plants. Ann. Rev. Bioch. **VI** (578).

BERNHAUER, K., 1932, Die oxydativen Gährungen. Berlin.

——— & SLANINA, F., 1933, Zum Chemismus der durch *Aspergillus niger* bewirkten Säurebildungsvorgänge. X. Über die Bildung von Oxalsäure aus Ameisensäure. Bioch. Ztschr. **264** (109).

——— ———, 1934, Chemismus und Enzymchemie der Säurebildungs- und Säureumwandlungsvorgäng bei Schimmelpilzen. XI. Die Oxalsäurebildung aus Ameisensäure, etc. durch *Aspergillus niger*. Ebenda **274** (97).

——— & IGLAUER, A., 1936a, Über die Säurebildung aus Zucker durch *Asp. niger*. VI. Faktoren der Citronensäureanhäufung. Ebenda **286** (45).

——— ———, 1936b, Über die Säurebildung aus Zucker etc. VII. Die Bedeutung der Stickstoffquelle für die Citronensäurebildung. Ebenda **287** (153).

——— & THOLE, H., 1936c, Über die Säurebildung durch *Rhizopus*arten. I. Die Bildung von Äpfelsäure bei der Fumarsäuregärung. Ebenda **287** (167).

——— & POSSELT, G., 1937, Über Schimmelpilzlipoide. II. Die Zusammensetzung eines *Aspergillus-niger*-Fettes. Ebenda **294** (215).

BORTELS, H., 1927, Über die Bedeutung von Eisen, Zink und Kupfer für Mikroorganismen. Ebenda **182** (301).

BOTHE, F., 1931, Über das Leuchten verwesender Blätter und seine Erreger. Planta **14** (752).

BRENNER, W., 1914, Die Stickstoffnahrung der Schimmelpilze. Zentbl. f. Bak. II. **40** (555).

———, 1916, Nachtrag zur „Stickstoffnahrung der Schimmelpilze." Ebenda **44** (304).

BRONSART, H. VON, 1919, Vergleichende Untersuchung über 3 *Xylaria*-Arten. Ebenda II. **49** (51).

BULLER, A. H. R., 1909/34, Researches on Fungi. I-VI. London.

BURGEFF, H., 1932, Saprophytismus und Symbiose. Jena.

———, 1936, Samenkeimung der Orchideen. Jena.

BUTKEWITSCH, WL., 1903, Umwandlung der Eiweisstoffe durch die niederen Pilze im Zusammenhange mit einigen Bedingungen ihrer Entwicklung. Jahrb. f. wiss. Bot. **38** (147).

———, 1922a, Über die Bildung der Oxalsäure und des Ammoniaks in den Kulturen von *Aspergillus niger* auf Pepton. Bioch. Ztschr. **129** (445).

———, 1922b, Die Ausnutzung des Peptons als Kohlenstoffquelle durch die *Citromyces*-Arten. Ebenda **129** (455).

———, 1922c, Über die Bildung und Anhäufung der Oxalsäure in den *Citromyces*-Kulturen auf den Salzen der organischen Säuren. Ebenda **129** (464).

———, MENZSCHINSKAJA, E. W. & TROFIMOVA, E. I., 1934a, Zur biochemischen Herkunft von Citronen- und Oxalsäure. I. Über die Bildung von Citronensäure aus Essigsäure. Ebenda **272** (290).

——— ——— ———, 1934b, „ „ II. Die Mycelsubstanzen als eine Quelle der Säurebildung. Ebenda **272** (364).

———, 1934c, „ „ III. Über biochemische Bildung von Oxalsäure und über Beteiligung von Mycelsubstanzen an diesem Vorgang. Ebenda **272** (371).

BUTKEWITSCH, WL. & TIMOFEEWA, A. G., 1935a, Einfluss einzelner mineralischer Elemente des Nährmediums auf die Säurebildung bei *Aspergillus niger*. Ebenda **275** (405).

———, MENZSCHINSKAJA, E. W. & TROFIMOVA, E. I., 1935b, Zur biochemischen Herkunft von Citronen- und Oxalsäure. IV. Die reduzierenden Mycelsubstanzen und ihre Teilnahme an der Citronensäurebildung. Ebenda **276** (446).

CAMPBELL, A. H., 1934, Zone Lines in Plant Tissues. II. The Black Lines formed by *Armillaria mellea*. Ann. appl. Biol. **21** (1).

——— & MUNSON, R. G., 1936, „ „ III. The Black Lines formed by *Polyporus squamosus*. Ebend **28** (453).

CHRISTENSEN, H. R., 1915, Studien über den Einfluss der Bodenbeschaffenheit auf das Bakterienleben und den Stoffumsatz im Erdboden. Zentbl. f. Bak. 11. **43** (20).

CHRZĄSZCZ, T & TIUKOW, D., 1929, Über die Säurebildung der *Penicillium*arten (Link). Bioch. Ztschr. **204** (106).

——— ———, 1930, Oxalsäure in Schimmelpilzkulturen. Ebenda **218** (73).

——— ———, 1931, Die Abhängigkeit der Citronen- bzw. Oxalsäureanhäufung von der Stickstoffnahrung bei Schimmelpilzen. Ebenda **242** (137).

——— & ZAKOMORNY, M., 1933a, Biochemische Umbildung des Zuckers durch Schimmelpilze. Die Umbildung der Fumarsäure, Anhäufung der Ameisensäure und der Chemismus der Oxalsäurebildung. Ebenda. **259** (156).

——— ———, 1933b, Biochemische Umbildung der Ameisensäure durch Schimmelpilze und Chemismus dieses Vorganges. Ebenda **263** (105).

——— ———, 1934, Über die Bildung von Harnstoff aus Pepton durch verschiedene Schimmelpilze. Ebenda **273** (31).

——— ———, 1935a, Über den Mechanismus der Umbildung von Ameisensäure zu Oxal- und Kohlensäure durch verschiedene Schimmelpilze. Ebenda **279** (64).

——— & PEYROS, E., 1935b, Optimale Bedingungen der Citronensäureanhäufung, sowie einige Beobachtungen zur Theorie der Citronensäurebildung. Ebenda **280** (325).

——— & ZAKOMORNY, M., 1936a, Die Bedingungen der biochemischen Umbildung der Essigsäure in Citronensäure durch verschiedene Schimmelpilze. Ebenda **285** (340).

——— ———, 1936b, Über die Bedeutung der Äpfelsäure bei der Umbildung der Essigsäure in Citronensäure durch verschiedene Schimmelpilze. Ebenda **285** (348).

——— & SCHILLAK, R., 1936c, Die Umbildung der Milchsäure durch verschiedene Schimmelpilze. Ebenda **288** (359).

——— & ZAKOMORNY, M., 1937, Über physiologische De- und Regeneration von Schimmelpilzen mit kräftiger Citronensäureerzeugung. Ebenda **291** (312).

CURRIE, J. N. & THOM, CH., 1915, An Oxalic Acid producing *Penicillium*. J. Biol. Chem. **22** (287).

CZAPEK, F. 1913/21, Biochemie der Pflanze. Bd. I—III, Jena.

DAI-HYAKKA-ZITEN (Lexton) (Heibon-Sha's), 1932, Tokyo.

DANILOV, A. N., 1925, Zur Frage nach der Pigmentbildung bei den Pilzen. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. **43** (27).

DMITREVSKY, N., 1929, Pigmentbildung als Differential-Kennzeichen bei der Unterscheidung der Mikroben. Zentbl. f. Bak. II. **78** (352).

EHRLICH, F., 1906, Über eine Methode zur Spaltung racemischer Aminosäuren mittels Hefe. Bioch. Ztschr. **1** (8).

———, 1907, Die chemischen Vorgänge bei der Hefegärung. Ebenda **2** (52).

———, 1911, Über die Bildung des Plasmaeiweisses bei Hefen und Schimmelpilzen. Ebenda **36** (477).

EHRLICH, 1916, Über den biochemischen Abbau sekundärer und tertiärer Amine durch Hefe und Schimmelpilze. Ebenda **75** (417).

EMMERLING, O., 1903, Oxalsäurebildung durch Schimmelpilze. Zentbl. f. Bak. II. **10** (273).

FALCK, R., SCHOELLER, W. & MICHAEL, S., 1933, Studien über die Säurebildung durch Fadenpilze. Bioch. Ztschr. **262** (280).

FINK, H., LECHNER, R. & HEINISCH, E., 1935, Über die Futterhefegewinnung in Holzzuckerlösungen I. Ebenda **278** (23).

FRANKE, W. & HASSE, K., 1937, Zur biologischen Oxydation der Oxalsäure. I. Ztschr. f. physiol. Chem. **249** (231).

FREY-WYSSLING, A., 1935, Die Stoffausscheidung der höheren Pflanzen. Berlin.

FRIES, N., 1938, Über die Bedeutung von Wuchsstoffen für das Wachstum verschiedener Pilze. Symb. Bot. Upsal. III: 2.

FUHRMANN, FR., 1905, Untersuchungen über fluoreszierende Wasservibrionen. Zentbl. f. Bak. II. **14** (641).

FÜRTH. O., KAUNITZ, H. & SCHERF, F., 1934, Über den Tyrosin- und Tryptophangehalt der Leberproteine unter normalen und pathologischen Verhältnissen (Zugleich ein Beitrag zum Problem der Melaninbildung.). Bioch. Ztschr. **272** (88).

GERRETSEN, F. C., 1916, Die Einwirkung des ultravioletten Lichtes auf die Leuchtbakterien. Zentbl. f. Bak. II. **44** (660).

GRIMES, M., 1927, An aerobic capsulated Bacterium chromogenic on Sugar Media. Ebenda **72** (367).

GORR, G. & WAGNER, J,. 1933, Über das Amidspaltungsvermögen der *Torula utilis*, eine Untersuchung über die Abhängigkeit pflanzlicher Enzymausbildung von der Stickstoffernährung. Bioch. Ztschr. **266** (96).

HAMADA, M., 1939, Studien über die Mykorrhiza von *Galeola septentrionalis*—Ein neuer Fall der Mykorrhiza-Bildung durch intraradicale Rhizomorpha. Jap. J. Bot. **10** (151).

HANEDA, Y., 1939a Einige Beobachtungen über Leuchtpilze aus Polynesien (übersetzt durch Verfasser, jap.). Kagaku-Nanyo. **1** (116).

———, 1939b, Bioluminescenz (übersetzt durch Verfasser, jap.). Kagaku. **9** (253).

HANSEN, A., 1889, Die Verflüssigung der Gelatine durch Schimmelpilze. Flora **72** (88).

HARDER, R., 1915, Morphologie und Physiologie von *Hyalopus heterosporus*. Zentbl. f. Bak. II. **42** (27).

HEFFERAN, MARY, 1904, A comparative and experimental Study of Bacilli producing Red Pigment. Ebenda II. **11** (520).

HERMANN, S. & FODOR, N., 1935, C-Vitamin- (l-Ascorbinsäure)-Bildung durch eine Symbiose von Essigbakterien und Hefen. Bioch. Ztschr. **276** (323).

IWANOFF, N. N. & ZWETKOFF, E. S., 1936, The Biochemistry of the Fungi. Ann. Rev. Bioch. **V** (585).

JANKE, A., 1916, Studien über die Essigsäurebakterien-Flora von Lagerbieren des Wiener Handels. Zentbl. f. Bak. II. **45** (36 etc.).

JORDAN, E. A., 1899, The Production of Fluorescent Pigment by Bacteria. Bot. Gaz. **27** (19).

KARDO-SYSSOJEVA, E., 1933, Über die Bildung von Gluconsäure durch *Aspergillus niger*. Bioch. Ztschr. **266** (327).

KITAJIMA, K., 1930, Kulturversuche mit holzzersetzenden Pilzen (jap.). Ringyo-Siken-Hokoku. No. 30.

KLIMENKO, W. N., 1908, „*Bacillus aterrimus tschitensis*.“ Zentbl. f. Bak. II. **20** (1).

KLUYVER, A. J. & HOOGERHEIDE, J. C., 1934, Über die Beziehungen zwischen den Stoffwechselvorgängen der Mikroorganismen und dem Oxydoreduktionspotential im Medium. II. Versuche mit Hefearten. Bioch. Ztschr. **272** (197).

KNIEP, H., 1911, Über das Auftreten von Basidien im einkernigen Myzel von *Armillaria mellea*. Ztschr. f. Bot. **3** (529).

KÖGL, F. & FRIES, N., 1937, Über den Einfluss von Biotin, Aneurin und Meso-Inosit auf das Wachstum verschiedener Pilzarten. Ztschr. f. physiol. Chem. **249** (93).

KOSTYTSCHEW, S. & TSCHESNOKOV, W., 1927, Bildung von Zitronensäure und Oxalsäure durch *Aspergillus niger*. Planta. **4** (181).

KRAINSKY, A., 1914, Die Aktinomyceten und ihre Bedeutung in der Natur. Zentbl. f. Bak. II. **41** (654, 669 etc.).

KRAUT, H. & SCHLOTTMANN, F. 1937, Die Verwendbarkeit der Hefe als menschliches Nahrungsmittel. I. Der Gehalt der Hefe an den lebenswichtigen Aminosäuren. Bioch. Ztschr. **291** (406).

KUSANO, S. 1911, *Gastrodia elata* and its symbiotic Association with *Armillaria mellea*. J. Coll. Agric. Tokyo. **4** (1).

KÜSTER, E., 1935, Die Pflanzenzelle. Jena.

LAFER, F., 1904/14, Handbuch der Technischen Mykologie. I-V. Jena.

LEONIAN, L. H., 1936, Control of Sexual Reproduction in *Phytophthora cactorum*. Amer. J. Bot. **23** (188).

LIEBEN, F. & BAUMINGER, B., 1935, Über das System Zucker-Aminosäure-Hefe. Bioch. Ztschr. **279** (321).

LONG, W. H. & HARSCH, R. M., 1918, Pure Cultures of Wood-rotting Fungi on Artificial Media. J. Agr. Res. Washing. **12** (33).

MASUI, K., 1927, A Study of the Ectotrophic Mycorrhizas of Woody Plants. Mem. Coll. Sci., Kyoto Imp. Univ. B. **3** (149).

MCKEE, H. S., 1937, A Review of recent Work on the Nitrogen Metabolism of Plants. New Phytolog. **36** (33, 240).

MELIN, E. 1936. Methoden der experimentellen Untersuchung mykotropher Pflanzen. Handb. d. Biolog. Arbmethod. Abt. XI, T. 4. H. 6 (Lief. **455**).

MEYERHOF, O., 1934, Beobachtungen zur Kinetik der zellfreien Gärung. Bioch. Ztschr. **273** (80).

MOLISCH, H., 1912, Leuchtende Pflanzen. Jena.

MORGENTHALER, O., 1916, Ein farbstoffbildender *Bacillus* aus Bienenlarven. Zentbl. f. Bak. II. **46** (444).

NAKAMURA, H., 1939, Hydroperoxyd und bakterielles Leuchten. Acta Phytochimica. **11** (159).

NAKAYA, U., 1938, Der Schnee (übersetzt durch Verfasser, jap.). Iwanami-Sinsyo. **8.**

NEUBAUER, O. & FROMHERZ. K., 1910/11, Über den Abbau der Aminosäuren bei der Hefegärung. Ztschr. f. Physiol. Chem. **70** (326).

NIEL, C. B. VAN, 1937, Bacterial Luminescene (The Biochemistry of Bacteria). Ann. Rev. Bioch. **VI** (602).

NIELSEN, N. & HARTELIUS, V., 1938a, Untersuchungen über die Wuchsstoffwirkung der Aminosäuren gegenüber Hefe. Bioch. Ztschr. **295** (211).

——— ———, 1938b, Versuche über den Einfluss des β-Alanins auf das Wachstum von *Aspergillus niger*. Ebenda **296** (171).

——— ———, 1938c, Untersuchungen über die Wuchsstoffwirkung von β-Alanin, β-Alanyl-Glycin, Asparaginsäure, Glycyl-Asparaginsäure und verwandte Stoffe auf Hefe. Ebenda **296** (359).

NIKITINSKY, J., 1904, Über die Beeinflussung der Entwicklung einiger Schimmelpilze durch ihre Stoffwechselprodukte. Jahrb. f. wiss. Bot. **40** (1).

NISIKADA, Y. & YAMAUTI, K., 1936, On the Spore-Germination and the Pure-Culture of *Armillaria Matsutake* ITO et. IMAI, the most important Edible Mushroom in Japan. Ber. Ohara Inst. **7** (273).

PETERSON, W. H. & JOHNSON, M. J., 1938, The Chemistry of Bacteria. Ann. Rev. Bioch. VII (491).

PFEFFER, W., 1897, 1904, Pflanzenphysiologie. 2. Aufl. I, II. Leipzig.

REED, H. S., 1939, The Relation of Copper and Zinc Salts to Leaf Structure. Amer. J. Bot. **26** (29).

REICHEL, L. & REINMUTH, W., 1938, Über die Fettbildung aus Kohlenhydraten durch den Hefepilz *Endomyces vernalis*. Bioch. Ztschr. **299** (359).

REITSMA, J., 1932, Studien über *Armillaria mellea*. Phytopath. Ztschr. **4** (461).

RIPPEL, A. & LUDWIG, O., 1925, Die Schwarzfärbung von *Azotobacter chroococcum* BEIJ. als Melaninbildung. Zentbl. f. Bak. II. **64** (161).

ROBBINS, W. J., 1937, The Assimilation by Plants of various Forms of Nitrogen. Amer. J. Bot. **24** (243).

RUHLAND, W. & WOLF, J., 1936, Metabolism of Carbohydrates and Organic Acids in Plants. Ann. Rev. Bioch. **V** (485, 504).

SACKETT, W. G., 1912, Bakteriologische Untersuchungen über die Stickstoffbindung in gewissen Bodenarten von Colorado. Zentbl. f. Bak. II. **34** (106 etc.).

SCHOBER, R., 1930, Luftstickstoffassimilation und Säurebildung bei *Aspergillus niger*. Jahrb. f. wiss. Bot. **72** (1).

SCHRÖDER, MATHILDE, 1932, Zur Frage der Assimilation des Luftstickstoffs durch *Aspergillus niger*. Jahrb. f. wiss. Bot. **75** (377).

SHIBATA, E., TAKEDA, T. & INOUE, T., 1936, Eine neue Theorie über das Leuchten der leuchtenden Organismen. Bot. & Zoology **4** (1323, jap. mit deutsch. Zusammenfassung).

SMIRNOW, M. R., 1916, Induced Variations in Chromogenesis. Zentbl. f. Bak. II. **45** (369).

STEINER, M. 1938, Ernährung und Fettbildung bei *Endomyces vernalis*. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. **56** ((73)).

STEINBERG, R. A. & BOWLING, J. D., 1939, Optimum Solutions as Physiological Reference Standards in Estimating Nitrogen Utilization by *Aspergillus niger*. J. Agr. Res. Washington. **58** (717).

STILES, W., 1936, An Introduction to the Principles of Plant Physiology. London.

STRAUSS, E., 1922a, Umwandlungsprodukte der Proteine. Handb. d. Biolog. Arbeitsmeth. (ABDERHALDEN). Abt. I. T. 8 (697).

———, 1922b, Tierische Pigmente und Farbstoffe. Ebenda Abt. I. T. 8 (731).

THOMAS, H. E., 1934, Studies on *Armillaria mellea*. J. Agr. Res. Washing. **48** (187).

UMRATH, K., 1939, Über Pilzwuchsstoffe mit spezifischer Wirkung. Protopl. **33** (13).

UNNA, P. G. & SCHUMACHER, J., 1925, Lebensvorgänge in der Haut der Menschen und der Tiere. Leipzig u. Wien.

WARBURG, O. & CHRISTIAN, W., 1938, Co-Ferment der d-Aminosäure-Deaminase. Kurze Mitteilung. Bioch. Ztschr. **295** (261).

WASSILJEW, G., 1935. Über biochemische Charakterisierung einiger Stämme von *Aspergillus niger* hinsichtlich ihres Säurebildungsvermögens. Ebenda **278** (226).

WEHMER, C., 1891a, Die Oxalatabscheidung im Verlauf der Sprossentwicklung von *Symphoricarpus racemosa* L. Bot. Ztg. **49** (149).

———, 1891b, Entstehung und physiologische Bedeutung der Oxalsäure im Stoffwechsel einiger Pilze. Bot. Ztg. **49** (233).

WEHMER, C. 1891c, Ueber den Einfluss der Temperatur auf die Entstehung freier Oxalsäure in Culturen von *Aspergillus niger* VAN TIEGH. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. **9** (163).

———, 1897, Kleinere mykologische Mitteilungen. I. Zur Oxalsäuregärung durch *Aspergillus niger*. Zentbl. f. Bak. II. **3** (102).

———, 1912, Über Pigmentbildung bei *Merulius lacrymans* SCHUM. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. **30** (321).

———, 1919, Verlauf des Oxalsäure-Bildungsvermögens bei einem degenerierten *Aspergillus niger*. Zentbl. f. Bak. II. **49** (145).

WIGGER, A., 1914, Untersuchung über die Bakterienflora einiger Kraftfuttermittel in frischem und gärendem Zustande, mit besonderer Berücksichtigung ihrer Einwirkung auf Milch. Ebenda II. **41** (25).

WILHELM, A. F., 1930, Untersuchungen über das Chromogen in *Vicia Faba*. Jahrb. f. wiss. Bot. **72** (203).

WILL, H., 1912, Beiträge zur Kenntnis der Sprosspilze ohne Sporenbildung, welche in Brauereibetrieben und in deren Umgebung vorkommen. Zentbl. f. Bak. II. **34** (30 etc.).

———, 1916, do. Ebenda **46** (226).

WOELTJE, W., 1914, Untersuchung der *Penicillium*-Spezies nach physiologischen Merkmalen. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. **32** (544).

ZACHAROWA, T. M., 1934, Über Oxydationsvorgänge in den Nadeln der *Picea excelsa* im Winter. Bioch. Ztschr. **270** (281).

ZIMMERMAN, A., 1925/27, Sammelreferate über die Beziehungen zwischen Parasit und Wirtspflanze. Zentbl. f. Bak. II. **63** (106 ff.), **65** (311 ff.), **69** (352 ff.) und **70** (51 ff.).

ZIPF, K. & THURAN, M., 1935, Über den Einfluss des Vitamin C auf die Hefegärung und Milchsäurebildung in *Bac. aerogenes*-Kulturen und Muskelbrei. Bioch. Ztschr. **282** (51).

XIII. Anhangstabelle.

Nährböden

a). Stamm-Salzlösung **(Stm).** $Ca(NO_3)_2$ 0,1%, KH_2PO_4 0,025%, K_2HPO_4 0,025%, $MgSO_4$ $(7H_2O)$ 0,025%, $(NH_4)_2SO_4$ 0,025%, $FeSO_4$ 0,005%.
Bei NO_3–frei anstatt $Ca(NO_3)_2$ $CaCl_2$ 0.1% und $(NH_4)_2SO_4$ 1,5%.
„ NH_4–frei „ $(NH_4)_2SO_4$ KNO_3 1,5%.
„ PO_4–frei „ KH_2PO_4 und K_2HPO_4 KNO_3 0,05%.
„ SO_4–frei „ $MgSO_4$ und $(NH_4)_2SO_4$ $MgCl_2$ 0,025% und NH_4Cl 0,025%.
„ Mg–frei kein $MgSO_4$.
(alle Salze von MERCK)

b). Sojasauce-Agarlösung (Sy).
Zwiebeldekokt (200gr+300cc H_2O, 1 Stde. gekocht)+H_2O 950cc
Sojasauce (Yamasa Zyo[1]) 50cc
1000cc

c). Kartoffel-Agarlösung (K).
Kartoffeldekokt (200gr+1000cc H_2O, 1 Stde. gekocht) 1000cc

d). Stm+Sy (od.+K). b) oder c) mit Salzen von a).

---

(1) „Yamasa Zyo“ hat ca. folgende Zusammensetzung: Wasser 69,04 (gr), Eiweiss-N 0,30, Nicht-Eiweiss-N 1,17, Zucker 3,69, eine Spur von Dextrin, flüchtige Säuren 0,08, nichtflüchtige Säuren 1,14, Salze (meist NaCl) 15,84 (nach Dai-Hyakka-Ziten).

A. Nährböden bei den Orientierungsversuchen.

	Nr.	Name	Zeichen	Lösung	Org. Stoffe C %	Org. Stoffe N %	pH[1] vor Ster.	pH[1] nach Ster. 3 Mal 45′ 100°C	Bemerk. (%)
(1)	61	Stärke-Pepton-BII′		Stm	Stärke[2] 1,5	Pepton-B[3] 1,5	5,5	5,4	[4]
(2)	62	Stärke-BII′		„	„		5,4	5,1	
(3)	63	Glukose-Pepton-BII′		„	Glukose[5] 1,5	Pepton-B 1,5	6,2	5,2	
(4)	64	Glukose-BII′		„	„		5,0	5,0	
(5)	65	Pepton-BII′		„		Pepton-B 1,5	5,8	5,3	
(6)	66	Stärke-Pepton-BIII		„	Stärke 1,5	Pepton-B 0,6	5,6	5,4	

	Nr.	Name	Zeichen	Lösung	Org. Stoffe C %	Org. Stoffe N %	pH vor Ster.	pH nach Ster. 3 Mal 45′ 100°C	Bemerk. (%)
(7)	55	Sojasauce-Agar	S	Sy	Glukose 2,5		? (sauer)	? (sauer)	kein Salz-Zusatz Agar 3,5
(8)	67	,, -II	SII	Stm+Sy	Glukose 2,5		? (sauer)	5,0	Agar 3,5
(9)	68	,, -I	SI	,, ,,	,, 1,5		? (sauer)	5,0 ?	Agar 3,5
(10)	70	Kartoffel-Agar-I	KI	Stm+K	,, 1,5		5,2	5,0	

B. Nährböden bei den Hauptversuchen.

(11)-(46)	74	Glukose-Pepton-Reihe	0(o)-V(5)	Stm	Glukose 0,0-8,0	Pepton-T[6] 0,0-8,0	ca. 5,0	ca. 5,0	vgl. D.
(47)	75	Agar-4,5	5,0′	,,	Stärke 1,5	Pepton-B 1,5	5,0	4,9	Agar 4,5
(48)	76	pH 4,3	4,3	,,	,, ,,	Pepton-T 1,5	4,1	4,3	Agar 3,0
(49)	,,	pH 5,0	5,0	,,	,, ,,	,, ,,	5,0	5,0	ca.=61
(50)	,,	pH 6,1	6,1	,,	,, ,,	,, ,,	6,0	6,1	
(51)	,,	pH 8,0	8,0	,,	,, ,,	,, ,,	8,0	8,0	
(52)	77	Asparagin	a	,,	,, ,,	Asparagin[7] 1,5	4,8	4,9	
(53)	78	Glyzerin	g	,,	Glyzerin[8] 1,5	Pepton-T 1,5	5,0	5,0	
(54)	81	Mannit	m	,,	Mannit[9] 1,5	,, ,,	5,1	5,1	
(55)	79	Sojasauce-Agar-Hefe	SH	Stm+Sy	Glukose 1,5		? (sauer)	? (sauer)	getrock. Bierhefe 1,5[10] Agar 3,5
(56)	,,	,, -Pepton 1,5	SPI	,, ,,	,, ,,	Pepton-T 1,5	? (sauer)	? (sauer)	Agar 3,5
(57)	,,	,, -Pepton 1,5 Agar 1,5	SPI′	,, ,,	,, ,,	,, ,,	? (sauer)	? (sauer)	
(58)	,,	,, -Pepton 4,0	SPII	,, ,,	,, ,,	,, 4,0	? (sauer)	? (sauer)	Agar 3,5

	Nr.	Name	Zeichen	Lösung	Org. Stoffe C %	Org. Stoffe N %	pH vor Ster.	pH nach Ster. 3 Mal 45′ 100°C	Bemerk. (%)
(59)	80	Kartoffel-Agar-Pepton 1,5	KPI	Stm+K	Glukose 1,5	Pepton-T 1,5	5,2	5,0	
(60)	,,	,, ,, 4,0	KPII	,, ,,	,, ,,	,, 4,0	5,2	5,0	
(61)	82	NH_4NO_3	82	Stm+ NH_4NO_3 1,5	Stärke 1,5	/	5,0	4,9	NH_4NO_3 1,5
(62)	84	NO_3–frei	84	vgl. a)	,, ,,	/	5,0	4,9	$(NH_4)_2SO_4$ 1,5
(63)	85	NH_4–frei	85	,,	,, ,,	/	5,0	5,1	KNO_3 1,5
(64)	83	PO_4–frei	83	,,	Glukose 1,5	Asparagin 1,5	5,2	4,9	
(65)	86	SO_4–frei[11]	86	,,	,, ,,	,, ,,	5,0	5,1	
(66)	87	Mg–frei	87	,,	,, ,,	,, ,,	5,0	5,1	

C. Nährböden bei den Nachversuchen 1.

(67)	93	Hefe-Agar	H	Stm	/	/	5,2	5,3	getrock. Bierhefe 0,5
(68)	94	Hefe-Glukose-Agar	HG	,,	Glukose (TAKEDA) 2,0	/	5,2	5,2	,, ,,
(69)	95	Hefe-Glukose-Pepton-Agar-I	HGPI	,,	,, ,,	Pepton-T 2,0	5,2	5,3	,, ,,
(70)	96	,, ,, -II	HGPII	,,	,, ,,	,, 0,5	5,2	5,2	,, ,,
(71)	97	,, ,, -III	HGPIII	,,	,, 0,5	,, 2,0	5,2	5,4	,, ,,
(72)	98	Sojasauce-Glukose-I	SGI	Stm 1000cc + Sojasauce 50 cc	,, 2,5	/	5~6	5~6	kein Zwiebeldekokt-Zusatz
(73)	101	,, ,, -II	SGII	,, ,,	,, 5,0	/	,,	,,	,, ,,
(74)	99	Sojasauce-Glukose-Hefe-Agar	SGH	,, ,,	,, 2,5	/	,,	,,	,, ,, getrock. Bierhefe 0,5
(75)	100	Hefe-Glukose-NaCl-Agar	HG-NaCl	Stm+ NaCl 0,8%	,, 2,0	/	5,2	5,3	,, ,,

D. Glukose-Pepton-Reihe (Lösung: Stm; vgl. B.).

N : C(12)			1/16	1/8	1/4	1/2	1	2	4	8	16	
O. (o)-(5)	Pepton-T %						0,0	0,5	1,0	2,0	4,0	8,0
Glukose	pH {vor Ster.						4,9	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
0,0 %	pH {nach „						4,4	—	5,1	5,0	—	5,0
I. (o)-(5)	Pepton-T %					0,0	0,5	1,0	2,0	4,0	8,0	
Glukose	pH {vor Ster.					5,0	5,0	5,2	5,2	5,2	5,2	
0,5 %	pH {nach „					5,0	5,1	5,1	5,1	5,1	5,1	
II. (o)-(5)	Pepton-T %				0,0	0,5	1,0	2,0	4,0	8,0		
Glukose	pH {vor Ster.				5,0	5,2	5,2	5,2	5,2	5,0		
1,0 %	pH {nach „				5,0	5,1	5,1	5,1	5,1	5,1		
III. (o)-(5)	Pepton-T %			0,0	0,5	1,0	2,0	4,0	8,0			
Glukose	pH {vor Ster.			5,0	5,2	5,2	5,2	5,2	5,2			
2,0 %	pH {nach „			4,8	5,1	5,1	5,1	5,1	5,1			
IV. (o)-(5)	Pepton-T %		0,0	0,5	1,0	2,0	4,0	8,0				
Glukose	pH {vor Ster.		5,0	5,2	5,2	5,2	5,2	5,2				
4,0 %	pH {nach „		4,4	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0				
V. (o)-(5)	Pepton-T %	0,0	0,5	1,0	2,0	4,0	8,0					
Glukose	pH {vor Ster.	5,0	5,2	5,2	5,2	5,2	5,0					
8,0 %	pH {nach „	4,4	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0					

(1) pH: kontrolliert durch HCl oder KOH. (2) Stärke: Kartoffelstärke (Hokkaido).
(3) Pepton-B: Bacto-Pepton (Dig. Ferm. Co. Detroit Mich., U.S.A.).
(4) Wenn nicht angegeben, Agar 1,5 %. (5) Glukose MERCK (anhyd.).
(6) Pepton-T: TERUUCHI's Pepton (GOTO-Fuundo Co. Tokyo). (7) Asparagin MERCK.
(8) Glyzerin MERCK. (9) Mannit TAKEDA. (10) nicht filtriert.
(11) Sog. „SO_4-frei“ enthält eine Spur von $FeSO_4$ (vgl. a)).
(12) N:C gilt natürlich bei 0 und (o) nicht.

Erklärung der Tafel IX

Rhizomorphabildung bei den Nährböden der Glukose-Pepton-Reihe (Kultur 5./9. März 1938, Photo 7./8. April 1938; Kultur im Dunkeln, ca. 24°C, ×ca. 4/9).

Fig. 1. Stamm *Galeola*-Symbiont Nr. 1.
Fig. 2. Stamm *Armillaria mellea* Nr. 92.
Fig. 3. Stamm *Armillaria mellea* Nr. 105 (vgl. Tab. I).

O: Glukose=0%, I=0,5%, II=1,0%, III=2,0%, IV=4,0% und V=8,0%.

Bei jedem Satz sind die Pepton-Zusätze von links nach rechts: 0, 0,5, 1,0, 2,0, 4,0 und 8,0%; weitere Zusammensetzungen der Nährböden s. Anhangstabelle.

Die meisten Gläser sind von der Rückenseite gesehen. Siehe die Bräunung der Nährböden und die Verschiebung der Rhizomorphabildung mit der der N:C Verhältnisse (vgl. Fig. 7 Rh).





Fig. 1



Fig. 2



Fig. 3

Studies in the cytology of Pteridophyta
XVIII. The structure of the chloroplast of some Pteridophytic plants

By Akira YUASA

With 7 text-figures

(Received March 21, 1940)

The structure of chloroplast has been discussed often by many authors. LEPESCHKIN (1926) studied the structure of the chloroplast of *Bryopsis plumosa* and stated that the net-, chamber- or spongy structure was nothing but the artefact which was produced by fixative action, that the living chloroplast was microscopically homogeneous or contained, at least, granules or drops and that the state of aggregation or consistency of the chloroplast was variable. According to ZIRKLE (1926) the ground substance (stroma) of the chloroplast in certain higher plants is in the form of a hollow, flattened, prolate spheroid surrounding a large central vacuole and the granular appearance of this stroma is due to numerous pores which connect the central vacuole with the cytoplasm surrounding the chloroplast. Again, the chloroplast is surrounded by a more or less permanent sheath of non-granular cytoplasm. No evidence was found of the existence of an osmotic membrane around the chloroplast; however, certain cytoplasmic granules are formed around the chloroplast which are practically invisible under white light.

According to KIYOHARA (1935) the structure of the chloroplast in higher plants is as follows: the chloroplast is composed of a colorless ground substance, in the interior of which a layer of chlorophyll is seen; in this layer of chlorophyll is recognized a ring which reduces osmic acid or nitrate of silver; moreover a starch grain is formed in the central part of the chloroplast. However, HEITZ (1936, 1936) studied the structure of chloroplast in many species of plants and confirmed that many grana are seen in the colorless ground substance and that chlorophyll is confined only in grana which are disc-like in form.

Now, there remains to be settled the question, whether the structure of the chloroplast is constant in a certain species or is variable according to the condition under which the chloroplast is placed. Secondly, it is

necessary to confirm whether the structure of the chloroplast of Pteridophytic plant is identical with that of higher plants or not. In order to determine these two questions the present investigation was undertaken.

Materials and methods

The observation was made mainly on living materials, the blue filter being also used as described by HEITZ (1936). The observation was also carried out on materials which were stained with potassium iodide-iodine solution, with 1% aqueous solution of Janus green or with eosin. The materials used were the leaves of *Selaginella kraussiana, Adiantum capillus-veneris, Polystichum tripteron, Dryopteris uniformis, Athyrium nipponicum, Leptogramma totta* and *Isoetes japonica,* the leaves and rhizophores of *Selaginella uncinata* and the prothallia of *Adiantum capillus-veneris, Athyrium nipponicum, Dryopteris uniformis, Leptogramma totta* and *Polystichum tripteron.* As materials for the comparison the leaves of *Vicia faba* and *Rhodea japonica* were used.

Observations

In *Selaginella kraussiana* the upper epidermal cells of the leaf contain several large chloroplasts and the lower many small ones. In this chloroplast, when observation is made in vivo, many granules can be



Fi . 1, *a–d*. Chloroplasts, showing the network of chlorophyll. ×ca. 2060. *a, Selaginella uncinata* (stained with potassium iodide iodine solut.on). *b, Selagin lla kraussiana* (stained with potas ium iodide iodine solution). *c, Adiantum capillus-veneris* (stained with aqueous solution of eosin) *d, Vicia faba* (in vivo). g, grana; c, connecting threads; s, starch grain.

seen which do not exist independently, but are connected by protoplasmic threads and constitute a network (Figs. 1*b*, 7*c*). This state resembles very much the relation between the nucleus which is composed of chromatic spiral, i.e. chromonemata, and the chromomeres which exist on the chromonemata (Fig. 7, *e*).

Chlorophyll is contained in this network, so the network is seen to be green. The granules are the grana of HEITZ packed with plenty of chlorophyll and deeply green, while the connecting threads contain a small amount of chlorophyll and are faintly green. The ground space of the chloroplast is filled with a transparent substance thought to be rather liquid in nature. The resting nuclei of higher plants are an assemblage of chromonemata, but they are often seen to be granular when observed in vivo, so that this state of the nucleus resembles very much that of the chloroplast.

The network is distributed homogeneously in the chloroplast, but the central part of the latter is almost empty and is filled with ground substance. By manipulation of the micro-screw of the microscope an empty space can be often seen clearly in the center of the chloroplast. Especially, when the chloroplast sucks in water from the surrounding medium it swells considerably, showing a large empty place in its central portion.

The chloroplast is enveloped by a thin membrane which stains blue when stained with an aqueous solution of Janus green. In the case of *Vicia faba* when stained with Janus green the network of the chloroplast shrinks, leaving a transparent space between the shrunken mass and the membrane which stained blue (Fig. 5). When the chloroplast sucks in water from the surrounding medium it swells considerably, showing a thin membrane around its surface.

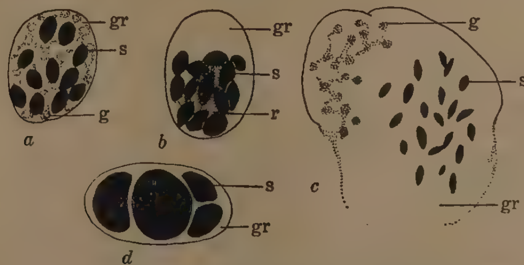


Fig. 2. *a*, chloroplast of *Selaginella uncinata*, showing large starch grains. ×ca. 2060. *b*, leucoplast of *Selaginella uncinata*. ×ca. 2060. *c*, destroyed chloroplast of *Selaginalla uncinata*. ×ca. 2060. *d*, chloroplast of the prothallum of *Polystichum tripteron*. ×ca. 2060. g, grana; gr, ground substance; r, red pigment; s, starch grain.

The ground substance of the chloroplast is thought to be rather liquid. Thus in the chloroplast of *Selaginella uncinata* which sucks in water from its surrounding medium, or in the leucoplast which is seen in the rhizophore-cell, many starch grains exist in a free state, showing vivid BROWNian movement (Fig. 2, *b*).

When a chloroplast is crushed by external force the network comes out as an irregular reticulum, and the ground substance mixes gradually with the surrounding medium (Figs. 3, 4, 7*d*).

In certain plants the network disappears and diffuses homogeneously in the ground substance of the chloroplast under certain conditions; accordingly the ground substance is seen to be green (the leaves of *Selaginella uncinata*). For example, these phenomena are seen when the chloroplast produces large starch grains in its interior (the prothallium-cells of *Adiantum capillus-veneris* and *Polystichum tripteron*)

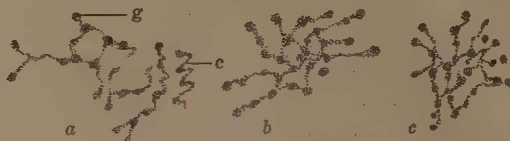


Fig. 3, *a–c*. Network of the grana and connecting threads which are pressed out from the chloroplast. ×ca. 2060. *a*, *Selaginella kraussiana* (aqueous solution of eosin). *b*, *Athyrium nipponicum* (potass um iodide iodine solution). *c*, *Selaginella uncinata* (potassium iodide iodine solution).

(Fig. 2, *d*). In the case of the leaf-cells of *Isoetes japonica* and the prothallium-cells of *Dryopteris uniformis*, *Athyrium nipponicum*, *Leptogramma totta* the network of the chloroplast is very faintly seen and is thought to be sparingly filled with chlorophyll.

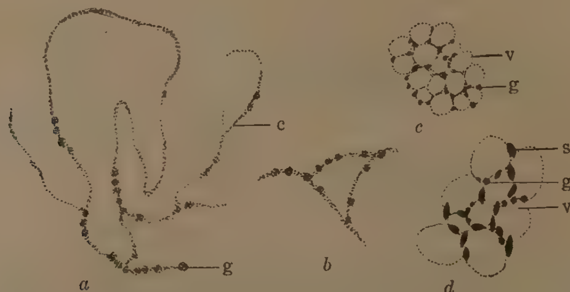


Fig. 4. *a*, *b*, destroyed network outside the chloroplast of *Rhodea japonica* (aqueous solution of eosin). ×ca. 2060. *c*, alveolar structure of the chloroplast of *Rhodea japonica* (aqueous solution of eosin). ×ca. 2060. *d*, alveolar structure of the destroyed chloroplast of *Selaginella uncinata* (potassium iodide iodine solution). ×ca. 2060. c, connecting threads; g, grana; v, vacuole; s, starch grain.

When the chloroplast is transformed into a leucoplast the network becomes faint and diffuses into the ground substance. The leucoplast in

the rhizophore-cell of *Selaginella uncinata* is transparent and contains many spindle-shaped starch grains and a mass of red pigment (Fig. 2, *b*). In the chloroplasts of the stem-cell the network cannot be observed, but the various stages of diffusion of the network into the ground substance are observable. The chloroplast of *Selaginella uncinata* contains many spindle-shaped starch grains in its interior (Fig. 2, *a*, *c*). In the beginning these starch grains appear as small processes at various portions of the network and become gradually larger. Perhaps the starch which has been produced by the network is collected at one portion of the network and changes into spindle-shaped starch grains. This would explain why the starch grains are seen to

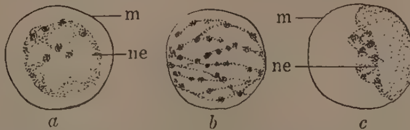


Fig. 5, *a-c*. Chloroplast of *Vicia faba*, stained with potassium iodide iodine solution. ×ca. 2060. m, membrane of chloroplast; ne, network of chlorophyll.

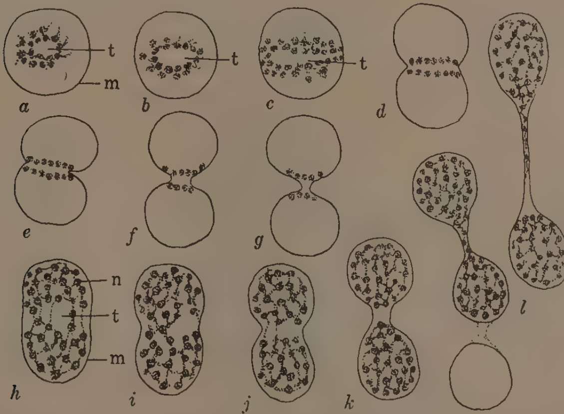


Fig. 6, *a–g*, *h–k*. Division of chloroppast of *Selaginella uncinata*, stained with aqueous solution of Janus green. ×2060. *l*, two daughter chloroplasts which are not yet divided completely. m, membrane; n, network; t, transparent zone.

be connected with the network when they are being produced. The completed starch grains become, however, free from the network. In the case of the chloroplast in the prothallium-cell large starch grain (or grains) is formed which is, however, thought to be developed from a small process in one portion of the network.

The behaviour of the network during the process of chloroplast division was observed in the case of *Selaginella uncinata*. When the division is taking place a transparent zone appears in the central portion of the network, then the chloroplast is constricted at the central portion, and the network is divided into two portions (Fig. 6, *a–c, h–j*). A narrow transparent zone is seen at the constricted portion of the chloroplast (Fig. 6, *d–g, k*). The constriction becomes gradually deeper and, at last, the chloroplast is divided into two. Accordingly the central portion of the dumb-bell-shaped chloroplast is made up of ground substance and membrane. Sometimes the two chloroplasts which have been produced by division remain, each being connected with the ground substance of the original chloroplast (Fig. 6, *l*).

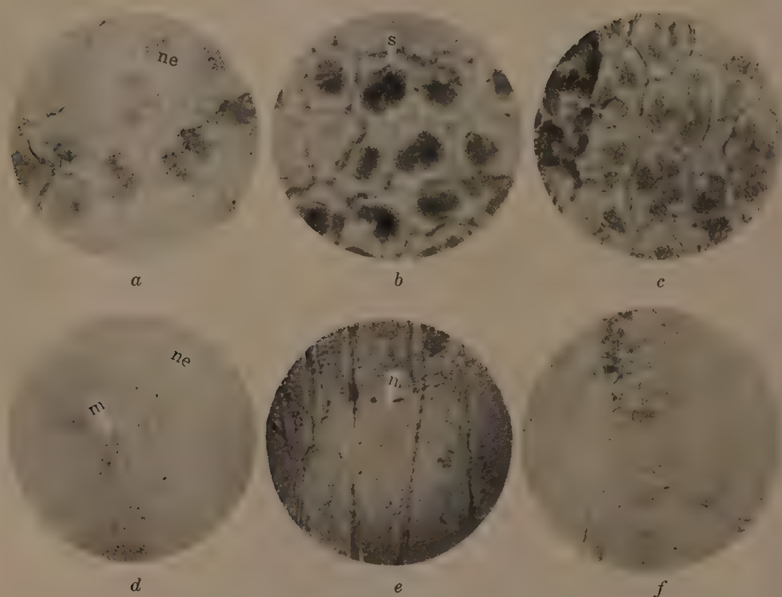


Fig. 7. *a, b*, chloroplasts of *Selaginella uncinata*, stained with potassium iodide iodine solution. ×ca. 380. *a*, showing the network (ne) of chlorophyll. *b*, showing the network and starch grains (s) in the central portion. *c*, chloroplast of *Selaginella kraussiana*, stained with potassium iodide iodine solution. ×ca. 380. *d*, network (ne) outside of the chloroplast of *Vicia faba*. (m) shows the membrane of chloroplast. ×ca. 220. *e*, scale cell of the bulb of *Allium cepa* (in vivo). n, nucleus. ×ca. 300. *f*, chloroplast of leaf-cell of *Vicia faba*. ×ca. 300.

At the time of the division of the chloroplast the network is divided into two almost identical portions, but the longitudinal division of the

network does not take place. At the end of the division of the chloroplast the resulting two daughter-chloroplasts are small, but become gradually larger while the network of the latter spreads out branches. So the density of the network in the daughter chloroplast is almost identical with that of the original one. This mode of division of the chloroplast is observed in the cases of *Selaginella kraussiana, Adiantum capillus-veneris*, *Vicia faba* and *Rhodea japonica.*

The ground substance of destroyed chloroplast often shows a foamy structure, being composed of small vacuoles and the destroyed network (Fig. 4, *c, d*).

To summarize the above-mentioned results: the chloroplast of some Pteridophytic plants studied in the present work is thought to be made up of thin external membrane, a ground substance and a network which is composed of grana and connecting threads. Chlorophyll occurs densely in the grana and sparingly in the connecting threads. Starch grains are produced in various section of the network.

Discussion

The idea that chlorophyll is contained in one layer in the chloroplast was already put forward by ZIRKLE (1926) and KIYOHARA (1936). However, ZIRKLE thought that the stroma which is a thick layer of chlorophyll is pierced through by many pores which connect the central vacuole with the cytoplasm surrounding the chloroplast. According to KIYOHARA, however, the thick layer of chlorophyll is continuously spherical and is not pierced through by pores. HEITZ (1936, 1936), however, recognized in the chloroplast many granules which were the grana of A. MEYER (1883) and thought that chlorophyll is contained in the grana.

The grana structure of the chloroplast was precisely observed by HEITZ (1936) in the leaf-cells of some of the Pteridophytic, Bryophytic and many higher plants with the aid of a blue filter. The present writer observed the living chloroplasts of Pteridophytic plants both with the blue filter and without it and also observed the chloroplast, stained with potassium iodide iodine solution or an aqueous solution of Janus green or eosin. From this observation he came to the conclusion that the grana in the chloroplasts of Pteridophytic plants studied in the present instance are connected with each other by protoplasmic threads and that chlorophyll is contained plentifully within the grana and sparingly in the connecting threads. In the living state the grana are seen clearly because of their deep colour, while the connecting threads are difficult to observe because of their faint colour. When crushed, however, the network which is composed of the grana and connecting threads is

pushed out from the chloroplast, the ground substance being diffused in the surrounding medium. This phenomenon resembles very much that in the case of the living nucleus which shows a granular appearance, but from which chromonemata appear when it is crushed. Chlorophyll is only contained in the grana and connecting threads, but the whole chloroplast appears green owing to the reflection.

The grana and connecting threads do not always exist in the chloroplast. They often disappear and diffuse into the ground substance under certain condition. The nature of these conditions could not, however, be determined in the present study. When the chloroplast is changed into the leucoplast, the network diffuses into the ground substance, and the green colour disappears. The stages of transformation from the chloroplast to the leucoplast are often seen in the stem- and rhizophore-cells of *Seleginella uncinata*.

The idea that chlorophyll is restricted in the network had already been put forward by FROMMANN (1880). He found in the functioning chloroplasts of Phanerogams a very fine fibrillar structure, namely, a network of green threads. In the chromatophores of the algae a fine fibrillar net work was also found by SCHMIDT (1884). He could not, however, determine whether this ground substance was green and the granules (or droplets) colorless, or whether the granules were coloured and the network colourless. He was rather inclined to believe that the scaffolding of the network was the coloured part.

A fibrillar arrangement of the chlorophyll was also observed in the chloroplast by WAGER (1905). According to him, the green colouring matter appears granular when the chloroplast is in the epistrophe, and fibrillar when it is in the apostrophe position. The fibrillar structure seemed to be that of fine fibrils lying more or less parallel to one another, but a closer examination reveals that they are connected together here and there so as to give the impression of an elongated network. The granules are in fact so arranged and so numerous when the chloroplast is in epistrophe as to present a practically continuous surface of chlorophyll to the action of light rays. The fibrillar arrangement, on the contrary, has numerous light spaces between the fibrils, so that a smaller surface of chlorophyll is exposed to the rays of light. A careful examination of the chloroplast in the epistrophic position makes it seem probable that the granular appearance is not due to the existence of separate granules of chlorophyll, but is probably an optical effects due to the superposition of alveoli one upon another, such as appears in fine oil foams. WAGER was therefore inclined to the view that the chlorophyll grain consists of a ground substance in the form of a delicate alveolar structure, in which the chlorophyll is more or less uniformly diffused.

By microscopic investigation on living and fixed material, PRIESTLY and IRVING (1907) have come to the conclusion that in the large chloroplast of *Chlorophytum elatum, Selaginella martensii* and *Selaginella kraussiana* the chlorophyll is restricted to the peripheral ring of the chloroplast where it is held in the meshes of a network.

The network is distributed almost homogeneously in the chloroplast, but the central position of the chloroplast is almost empty, being filled with the ground substance. When the isolated chloroplast sucks in water and becomes large the central portion of the chloroplast is seen clearly as an empty transparent chamber. Similar phenomena were observed by GOEPPERT and COHN (1849) and PRINGSHEIM (1881, 1881–1882). The ground substance of the chloroplast shows considerable fluidity. This can be confirmed from the fact that the ground substance can easily mix with the surrounding medium when the chloroplast is destroyed and that in the leucoplast and the chloroplast which suck in water the starch grains often show BROWNian movement.

In the central portion of the chloroplast a large vacuole was observed by ZIRKLE (1926) while the "Zentralgebilde" was observed by KIYOHARA (1935). In the chloroplast of Pteridophyta the present writer could not recognize any special substance in the central portion which is filled with the ground substance.

The problem concerning the presence and absence of the membrane around the chloroplast has been discussed often by many authors. NÄGELI (1846) observed a cellulose membrane, TSCHIRCH (1883) a membrane, BREDOW (1891) a plasma membrane and KÜSTER and SENN (1907) a fine membrane around the chloroplast. A. MEYER (1883), however, agreed with MOHL (1855) and SACHS (1812–1875) in regarding the chloroplast as naked, i.e. without membrane. KIYOHARA (1935) also observed no membrane around the chloroplast. According to ZIRKLE (1926) the chloroplast is surrounded by a more or less permanent sheath of non-granular cytoplasm, but no evidence was found of the existence of an osmotic membrane around it. In *Selaginella uncinata* and *Selaginella kraussiana* the present writer, however, observed around the chloroplast a thin membrane which stained blue with Janus green. He also confirmed the fact that in the chloroplast of *Vicia fava* the thin membrane is stained blue and the network, separated from the thin membrane, shrank when stained with 1% aqueous solution of Janus green. And when a leucoplast is crushed by pressure the thin membrane is broken and the network comes out from the destroyed membrane. From these facts it may be deduced that the chloroplast is enveloped by a thin membrane.

The division of the chloroplast was already observed by KIYOHARA (1935) and KUSUNOKI and KAWASAKI (1936). According to the present

writer's observation the network of the chloroplast is divided into two portions between which there appears a transparent zone of ground substance. In this transparent zone a constriction appears and gradually becomes deeper and deeper, resulting, at last, into two daughter chloroplasts, in which the network develops gradually. Starch grains at first accumulate in various portions of the network, later take on a spindle shape, and finally, when complete, become independent of the network.

Summary

1. In some of the Pteridophytic plants studied in the present work the chloroplast is composed of a thin external membrane, an inner ground substance and a network of chlorophyll.

2. The network is made up of grana and threads connecting the former with each other. Chlorophyll is contained plentifully in the grana and sparingly in the connecting threads. Under certain conditions the network disappears and diffuses into the ground substance.

3. The ground substance fills up the interior of the chloroplast and has a very low viscosity, being rather liquid.

4. Starch grains accumulate in various portions of the network.

5. At the beginning of the division of the chloroplast a transparent portion appears in the central section of the network, dividing the network into two parts. Then a constriction occurs at the central portion of the chloroplast and proceeds inwards.

In conclusion the writer wishes to express his sincere thanks for the valuable aid given by the Director Dr. H. HATTORI of the Tokugawa Institute for Biological Research. He is also particularly indebted to Prof. Y. SINOTÔ of Tôkyô Imperial University for his valuable suggestions and criticism during the course of this work.

The expenses for carrying out this study were partly defrayed out of a grant from the Imperial Academy, to which the writer wishes to express his best thanks.

THE TOKUGAWA INSTITUTE FOR
BIOLOGICAL RESEARCH

Literature

BREDOW, H. 1889. Beiträge zur Kenntnis der Chromatophoren. Jahrb. wiss. Bot. **22**: 349–414.

FROMANN, C. 1880. Beobachtungen über Struktur und Bewegungserscheinungen des Protoplasmas der Pflanzen. Jena.

GOEPPERT, H. R. und COHN, F. 1849. Ueber die Rotation des Zelleninhaltes in *Nitella flexilis*.. Bot. Zeit. **7**: 665–673, 681–691, 697–705, 713–719.

HEITZ, E. 1936. Gerichtete Chlorophyllscheiben als strukturelle Assiimilationseinheiten der Chloroplasten. Ber. Deut. bot. Gesells. **54**: 362–368.

———. 1936. Untersuchungen über den Bau der Plastiden. I. Die gerichteten Chlorophyllscheiben der Chloroplasten. Planta. **26**: 134–163.

KIYOHARA, K. 1935. Zur SCHIMPER-MEYERschen Theorie der Vermehrung der Chloroplasten. Jour. Fac. Sci., Imp. Univ. Tokyo, Sec. III, Bot., Vol. IV, Pt. 5: 399–465.

KÜSTER, E. 1911. Ueber amöboide Formveränderungen der Chromatophoren höherer Pflanzen. Ber. Deut. bot. Gesells. **29**: 362–369.

KUSUNOKI, S. und KAWASAKI, Y. 1936. Beobachtungen über die Chloroplastenteilung bei einigen Blütenpflanzen. Cytologia **7**: 530–534.

LEPESCHKIN, W. W. 1926. Ueber das Protoplasma und die Chloroplasten von *Bryopsis plumosa*. Ber. Deut. bot. Gesells. **44**: 14–22.

MEYER, A. 1883. Das Chlorophyllkorn. Leipzig.

MOHL, H. VON. 1855. Ueber den Bau des Chlorophylls. Bot. Zeit. **13**: 89–99, 105–115.

NÄGELI, C. 1846. Bläschenförmige Gebilde im Inhalte des Pflanzenzelle. Zeit. wiss. Bot. **3**: 94–128.

PRIESTLY, J. H. and IRVING, A. A. 1907. The structure of the chloroplast considered in relation to its function. Ann. Bot. **21**: 407–413.

PRINGSHEIM, N. 1881. Ueber Lichtwirkung und Chlorophyllfunktion in der Pflanze. Jahrb. wiss. Bot. **12**: 288–437.

———. 1881–1882. Ueber Chlorophyllfunktion und Lichtwirkung in der Pflanze. Ib. **13**: 377–490.

SACHS, J. 1862. Ueber den Einfluss des Lichtes auf die Bildung des Amylums in den Chlorophyllkörnern. Bot. Zeit. **20**: 365–373.

———. 1863. Beiträge zur Physiologie des Chlorophylls. Flora **46**: 195–204, 214–220.

———. 1864. Ueber die Auflösung und Wiederbildung des Amylums in den Chlorophyllkörnern bei wechselnder Beleuchtung. Bot. Zeit. **22**: 289–294.

SCHIMPER, A. F. W. 1885. Untersuchungen über die Chlorophyllkörper und die ihnen homologen Gebilde. Jahrb. wiss. Bot. **16**: 1-247.

SCHMITZ, F. 1884. Beiträge zur Kenntnis der Chromatophoren. Jahrb. wiss. Bot. **15**: 1–177.

SENN, G. 1907. Les chromatophores des quelques plantes vacuolaires dépourvues de chlorophylle. Arch. Sci. Phys. Nat. **24**: 499–501.

TSCHIRCH, A. 1883. Zur Morphologie der Chlorophylkörner. Ber. Deut. bot. Gesells. **1**: 202–207.

WAGER, H. 1905. The structure of the chloroplast. Rep. Brit. Assn. Adv. Sci. **75**: 573–575. (After ZIRKLE 1926).

WEIR, E. 1939. The microscopic appearance of the chloroplast. Protosplasma **32**: 145–152.

YUASA, A. 1939. Studies in the cytology of Pteridophyta XVI. Plastids and chondriosomes in the life cycle of polypodiaceous plants. Jap. Jour. Gen. **15**: 47–61.

ZIRKLE, C. 1926. The structure of the chloroplast in certain higher plants. Part I. Amer. Jour. Bot. **13**: 301–320.

———. 1926. Ebenda. Part. II. Ib. **13**: 321–341.

Weitere Untersuchungen über die pentaploiden *Triticum*-Bastarde X

Kreuzungsversuche mit gemischtem Pollen[1]

Von Seiji MATSUMURA

Hierzu 2 Textabbildungen und 4 Tabellen

(Eingegangen am 23. März 1940)

Einleitung

In der VI. Mitteilung dieser Serie wurde die Befruchtungsfähigkeit der 14- bis 21-chromosomigen Pollenkörner des Bastards *T. polonicum* × *T. spelta* aufgezeigt. Auf Grund der direkten Zählung der Chromosomen in den jungen Pollenkörnern haben wir 14- und 21-chromosomige Pollen im Verhältnis 4–6:1 gefunden. Aus Zertationskreuzungen, Eltern ♀ × F_1 ♂, mit hohem Kreuzungserfolg folgte ebenfalls, dass ungefähr 3 mal so viel 21-chromosomige Spermakerne befruchtet haben als 14-chromosomige. Danach müsste die Befruchtungsfähigkeit der 21-chromosomigen Pollenkörner ungefähr 12–18 mal so gross sein wie die der 14-chromosomigen.

In diesen Versuchen muss aber die Konkurrenz der aneuploiden Pollen mit 15 bis 20 Chromosomen berücksichtigt werden. Um nur die Befruchtungsfähigkeit der euploiden Pollen vergleichen zu können, ist es am besten, die Konkurrenzversuche mit gemischtem Pollen der beiden reinen 14- und 21-chromosomigen Arten, über die KIHARA (1932) bereits in der II. Mitteilung, *T. durum* und *T. vulgare* betreffend, berichtet hat, heranzuziehen (vgl. MATSUMURA, 1939b).

Material und Methode

Bei dieser Untersuchung wurden hauptsächlich *Triticum spelta* L. var. *Duhamelianum* KÖRN. bzw. *T. polonicum* L. var. *vestitum* KÖRN. als 21- bzw. 14-chromosomige Arten benutzt (Abb. 2, a u. d). Diese Arten

(1) Contributions from the Laboratory of Genetics, Biological Institute, Department of Agriculture, Kyoto Imperial University, No. 109.

wurden schon in der IV.–VIII. Mitteilung dieser Serie hauptsächlich für die Versuche herangezogen.

Bei der Vorbereitung des Pollengemisches bin ich wie folgt vorgegangen, indem ich nach der Methode von KIHARA (1932) verfuhr. Ganz reife Antheren von *T. polonicum* und *T. spelta* wurden von beiden Arten in gleicher Anzahl bei Versuch I auf eine kleine Schale (oder Nikuti) von 2.5 cm Durchmesser gelegt. Nach dem Aufplatzen wurde der Pollen sehr gut gemischt, und mit Hilfe eines feinen japanischen Pinsels wurden die Narben vorher kastrierter Blütchen der Eltern und ihrer Bastarde mit dem Gemisch reichlich belegt. Um die Keimung der Pollenkörner oder die Verlängerung der Pollenschläuche festzustellen, wurde 30 Minuten nach der Bestäubung Färbung mit „Cotton-Blue" vorgenommen.

Bei Versuch II wurden auch die gemischten Pollen in gleicher Anzahl der Antheren von *T. polonicum* und *T. spelta* benutzt, und zwar war das verwandte Mischungsverhältnis der Antheren von *T. polonicum* und *T. spelta* 5:1 und 10:1. Dieses Zahlenverhältnis mit mehreren *T. polonicum*-Pollen können wir mit demjenigen der 14- und 21-chromosomigen Pollenkörner des F_1-Bastards vergleichen. Auch beim Zusatzversuch wurden die gemischten Pollen von vier Arten (*T. polonicum, T. durum*(1), *T. spelta* und *T. vulgare*(2)) verwandt.

Versuch I. Keimungsversuche der verschiedenen Pollenkörner auf den Narben von *T. polonicum*, *T. spelta* und F_1-Bastard

Tabelle 1 bringt die Ergebnisse der Keimungsversuche mit *T. polonicum*-, *T. spelta*-, F_1- und gemischtem Pollen auf den Narben von Eltern und F_1-Bastard im Jahre 1938. Die Pollenkörner von *T. spelta* waren auf den verschiedenen Narben merklich keimfähiger als die von *T. polonicum* (vgl. Abb. 1, a u. b). Der Prozentsatz der gekeimten Pollenkörner von *T. spelta* betrug 85.14 auf den *T. polonicum*-Narben, 89.35 auf den F_1-Narben und 89.93 auf den *T. spelta*-Narben. 75.65% Pollenkörner von *T. polonicum* keimten auf eigenen Narben, während nur 49.14% bzw. 38.40% auf den F_1- bzw. *T. spelta*-Narben keimten.

Beim Versuch mit in gleicher Anzahl gemischtem Pollen von *T. polonicum* und *T. spelta* keimten nur 33–40% Pollenkörner auf den verschiedenen Narben. Diese weniger häufige Keimung dürfte darauf beruhen, dass die Fähigkeit der Pollen auf Grund der wegen der Mischung

(1) *T. durum* DESF. var. *Reichenbachii* KÖRN. (Abb. 2, b).

(2) *T. vulgare* VILL. var. *erythrospermum* KÖRN. (Abb. 2, c). Beide Arten wurden schon manchmal in der II., III. und IX. Mitteilung dieser Serie zu Versuchen herangezogen.

der zweierlei Pollen verflossenen Zeit etwas schwächer wird, als die der frischen Pollen, weil die Lebensdauer der Pollen des Weizens im allgemeinen kurz ist. Bei diesem Versuch mit dem Pollengemisch zeigten ausserdem auch die grösseren Körner eine höhere Keimung als die kleineren. Am bemerkbarsten machte sich dieses Verhalten, wenn *T. spelta* als Narbenpflanze benutzt wurde. In diesem Falle dürften wir wohl meistens die grösseren bzw. die kleineren Körner als solche von *T. spelta* bzw. *T. polonicum* zu betrachten haben. Es geht dies aus Abbildung 1 (a–c) klar hervor.

Tabelle 1. Keimungsversuche mit den Pollenkörnern auf den Narben von *T. polonicum*, *T. spelta* und F_1-Bastard.

Narben	Pollen	Gekeimt (%)		Ungekeimt (%)		Summe
T. polonicum	× *polonicum*	205(75.65)		66(24.35)		271
F_1	× ,,	143(49.14)		148(50.86)		291
T. spelta	× ,,	144(38.40)		231(61.60)		375
T. polonicum	× *spelta*	235(85.14)		41(14.86)		276
F_1	× ,,	302(89.35)		36(10.65)		338
T. spelta	× ,,	250(89.93)		28(10.07)		278
		Grössere Pollen	Kleinere Pollen	Grössere Pollen	Kleinere Pollen	
T. polonicum	× (1 *polon.*+1 *spel.*)	54(18.82)	44(15.33)	86(29.96)	103(35 89)	287
F_1	× ,,	70(24.14)	49(16.90)	77(26.55)	94(32.41)	290
T. spelta	× ,,	101(23.49)	41(9.53)	121(28.14)	167(38.84	430
T. polonicum	× F_1	34(9 24)	19(5.16)	191(51.90)	124(33.70)	368
F_1	× ,,	24(9.45)	9(3.54)	138(54.33)	83(32.68)	254
T. spelta	× ,,	34(9.88)	16(4.65)	178(51.75)	116(33.72)	344

Die Pollen des Bastards besassen aber nur geringe Keimfähigkeit (13–15%), und zwar waren die grösseren (wahrscheinlich mit mehreren Chromosomen) deutlich tüchtiger als die kleineren. Beim Bastard wurden in verschiedenem Grade mangelhaft entwickelte Pollenkörner beobachtet, welche grösstenteils nur geringe oder gar keine Keimfähigkeit haben dürften (Abb. 1, d).

Versuch II. Konkurrenzversuche mit gemischtem Pollen von *T. polonicum* und *T. spelta*

Diese Versuche mit *T. polonicum* und *T. spelta* habe ich in den Jahren 1936 und 1937 ausgeführt.

Wenn *T. polonicum* als Narbenpflanze benutzt wurde, erhielt man durch die Bestäubung von *T. spelta*-Pollen schlanke und runzelige oder eingeschrumpfte Samen mit geringerer Keimfähigkeit. Ihre Keimlinge waren weniger lebensfähig. Dagegen waren die Samen aus der reziproken

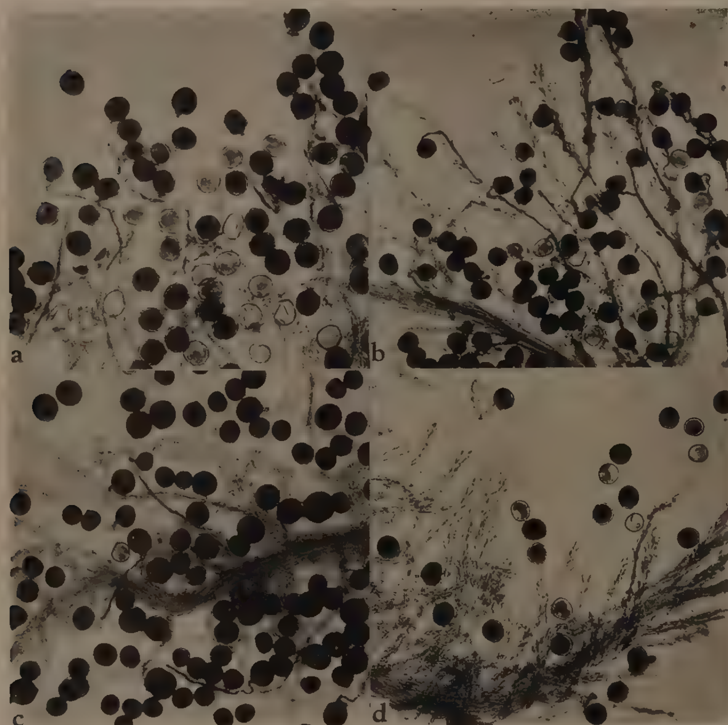


Abb. 1. Keimung der verschiedenen Pollenkörner auf der Narbe des Bastards *T. polonicum* × *T. spelta*. × *ca.* 70.

a. *T. spelta*-Pollen, b. *T. polonicum*-Pollen, c. Gemischte Pollen. Die grösseren bzw. die kleineren Körner dürfen als solche von *T. spelta* bzw. *T. polonicum* angesehen werden. Die leeren Körner sind die schon gekeimten; ihre Pollenschläuche verlängern sich auf der Narbe in Abb. a–c. d. Pollen des Bastards. Man beobachte die in verschiedenem Grade mangelhaft entwickelten Körner, welche grösstenteils geringe oder keine Keimfähigkeit haben dürften.

Kombination plump; sie besassen auch eine bessere Keimfähigkeit. Die Keimlinge aus diesen Samen entwickelten sich ganz normal (vgl. VIII. Mitt. und Abb. 1 der gleichen Mitt.). In diesen Konkurrenzversuchen *T. polonicum* × (*polonicum* + *spelta*) lässt sich das Zahlenverhältnis der

befruchteten Pollen von *T. polonicum* und *T. spelta* der Gestalt der Samen nach bestätigen. Tabelle 2 zeigt die Ergebnisse dieser Versuche.

TABELLE 2. Konkurrenzversuche mit gemischtem Pollen (*polonicum*+*spelta*) auf den *T. polonicum*-Narben.

Pollen	Zahl d. bestäubten Blütchen	Zahl d. Körner (%)	Gekeimt (%)	Zahl d. geschossten Pflanzen
1 *polon.* + 1 *spel.* Nichtbastard : Bastard	150	74 (49.33) 4 : 70	42 (56.75) 4 : 38	37 4 : 33
5 *polon.* + 1 *spel.* Nichtbastard : Bastard	34	20 (58 82) 3 : 17	14 (70.00) 3 : 11	14 3 : 11
10 *polon.* + 1 *spel.* Nichtbastard : Bastard	155	107 (69.03) 48 : 59	93 (86.91) 47 : 46	91 47 : 44

Im Versuch *T. polonicum* × (1 *polonicum* + 1 *spelta*) betrug der Prozentsatz der angesetzten Samen 49.33. Nach der Samengestalt wurden



Abb. 2. Die Aehren der Eltern und der F_1-Bastarde. ×3/10.

a. ***T. polonicum,*** **b.** ***T. durum,*** **c.** ***T. vulgare,*** **d.** ***T. spelta,*** **e.** ***T. polonicum*** **×** ***T. durum,*** **f.** ***T. durum*** **×** ***T. vulgare,*** **g.** ***T. polonicum*** **×** ***T. vulgare,*** **h.** ***T. polonicum*** **×** ***T. spelta,*** **i.** ***T. durum*** **×** ***T. spelta,*** **k.** ***T. vulgare*** **×** ***T. spelta.***

4 Nichtbastarde und 70 Bastarde unterschieden. Ihr Verhältnis ist demnach 1:17.5. Die Samen vom Nichtbastardtyp haben alle gekeimt,

aus ihnen hat sich *T. polonicum* entwickelt (Abb. 2, a). Von 70 Bastardtypen ergaben sich dagegen an gekeimten Samen 38, und zwar an geschossten Pflanzen nur 33, welche alle F_1-Bastarde waren (Abb. 2, h). Es müsste demnach richtig sein, nach der Gestalt der Samen einen Unterschied zwischen Nichtbastard- und Bastardtyp zu machen.

Beim Versuch der gemischten Pollen von 5 *T. polonicum*- und 1 *T. spelta*-Antheren wurde nur eine Aehre benutzt, wobei 20 Samen von dem 58.82%igen Körneransatz erhalten wurden. Unter diesen waren 17 Samen des Bastardtyps, von diesen wurden 11 überlebende Pflanzen erhalten. Im Versuch *T. polonicum* × (10 *polonicum* + 1 *spelta*) mit 69.03%igem Körneransatz wurden bei den Samen 48 Nichtbastarde und 59 Bastarde (im Verhältnis 1:1.23) beobachtet. Diese Samen ergaben 47 bzw. 46 Keimlinge von Nichtbastard- bzw. Bastardtyp und ferner 47 bzw. 44 geschosste Pflanzen.

In den Versuchen *T. spelta* × (*polonicum* + *spelta*) sind die Samen von Nichtbastarden und Bastarden gleich dickkörnig. Der Unterschied beider Typen ist daher unmöglich nur auf die Grösse und die Gestalt der Samen zurückzuführen. Der Bastardtyp besitzt ähnlich gute Keim- und Lebensfähigkeit, wie der Nichtbastardtyp (vgl. VIII. Mitt. und Abb. 1 der gleichen Mitt.). Demnach muss sich das Verhältnis der befruchteten Pollen von *T. polonicum* und *T. spelta* durch die Aehren der reifen Pflanzen feststellen lassen (Abb. 2, d u. h). Die betreffenden Resultate sind aus Tabelle 3 zu ersehen.

TABELLE 3. Konkurrenzversuche mit gemischtem Pollen (*polonicum*+*spelta*) auf den *T. spelta*-Narben.

Pollen	Zahl d. bestäubten Blütchen	Zahl d. Körner (%)	Gekeimt (%)	Zahl d. geschossten Pflanzen
1 *polon.* + 1 *spel.* Nichtbastard : Bastard	96	83 (86.46)	79 (95.18)	78 73 : 5
5 *polon.* + 1 *spel.* Nichtbastard : Bastard	96	69 (71.88)	68 (98.55)	68 57 : 11
10 *polon.* + 1 *spel.* Nichtbastard : Bastard	148	131 (88.51)	131 (100.00)	127 63 : 64

In diesen Fällen war der Körneransatz besser als in den Versuchen mit *T. polonicum* als Narbenpflanze. Der Prozentsatz des Körneransatzes bzw. der Keimung der Samen betrug 86.46 bzw. 95.18 im Versuch *T. spelta* × (1 *polonicum* + 1 *spelta*). Ein Keimling ist eingegangen und von den überlebenden 78 Pflanzen haben nur 5 in Aehren des Bastards geschosst. Das Verhältnis vom Nichtbastard- und Bastardtyp ist demnach 14.6:1. Im Versuch *T. spelta* × (5 *polonicum* + 1 *spelta*) mit etwas

niedrigerem Körneransatz (71.88%) und 100%iger Keimung haben sich 57 Nichtbastarde und 11 Bastarde entwickelt. Der Versuch der gemischten Pollen von 10 *T. polonicum*- und 1 *T. spelta*-Antheren zeigte guten Körneransatz und eine vollkommene Keimung. Einige Pflanzen sind von den Keimlingen eingegangen; 63 Nichtbastarde und 64 Bastarde (im Verhältnis 0.98:1) blieben jedoch erhalten.

Den Zusatzversuch mit gemischten Pollen in dem viererlei Antheren, nämlich von *T. polonicum* und *T. durum* als Emmerarten sowie *T. spelta* und *T. vulgare* als Dinkelarten in gleicher Anzahl gemischt wurden, habe ich in den Jahren 1937 und 1938 ausgeführt (Tab. 4).

TABELLE 4. Konkurrenzversuche mit gemischtem Pollen (*polonicum*+*durum*+*vulgare*+*spelta*) in gleicher Anzahl der viererlei Antheren auf den verschiedenen Narben.

Narben	Zahl d. bestäubten Blütchen	Zahl d. Körner (%)	Gekeimt (%)	Zahl d. geschossten Pflanzen
T. durum Emmer- : 5*x*-Bastardtyp	102	88 (86.27) 6 : 82	54 (61.36) 6 : 48	46 2+4 : 19+21*
T. polonicum Emmer- : 5*x*-Bastardtyp	122	65 (53.27) 5 : 60	35 (53.84) 5 : 30	26 2+3 : 8+13*
T. spelta 5*x*-Bastard- : Dinkeltyp	104	66 (63.46)	65 (98.48)	61 1+4 : 26+30*

* Zahlen der durch die Pollen (*polonicum*+*durum* : *vulgare*+*spelta*) befruchteten Pflanzen.

In den Versuchen Emmer × gemischte Pollen konnten wir zwischen den Samen von Emmer- und 5*x*-Bastardtyp einen Unterschied machen. Aber die Samen des Bastards *T. polonicum* × *T. durum* lassen sich von denjenigen der reinen Arten, *T. polonicum* und *T. durum*, nicht unterscheiden. Natürlich wissen wir nicht, ob die Samen des 5*x*-Bastards durch die Pollen von *T. vulgare* oder *T. spelta* befruchtet wurden. Diese Feststellung müsste durch die Aehre der reifen Pflanzen erfolgen (Abb. 2). Im Versuch *T. durum* × gemischte Pollen sind die Zahlen der Samen vom Emmer- bzw. 5*x*-Bastardtyp der Gestalt nach 6 bzw. 82 (im Verhältnis 1: 13.67). Die entsprechenden Zahlen im Versuch mit *T. polonicum* als Mutter sind 5 bzw. 60 (im Verhältnis 1:12).

Im Versuch *T. spelta* × gemischte Pollen mit gutem Keimungsprozentsatz (98.48%) wurden 5 5*x*-Bastard- und 56 Dinkeltypen in geschossten Pflanzen nachgewiesen. Demnach ist das Verhältnis 1:11.2. Bei diesen Zusatzversuchen war der Pollen von *T. durum* der Emmerart bzw. *T. spelta* der Dinkelart tüchtiger als der von *T. polonicum* bzw. *T. vulgare*.

Diskussion

THOMPSON und ARMSTRONG (1932) haben *ca.* 65–75% normale Pollenkörner bei den reifen Antheren in den Verbindungen *T. vulgare* × *T. dicoccum*, *T. durum* und *T. persicum* beobachtet, während von KIHARA und WAKAKUWA (1935) die Verbindung *T. polonicum* × *T. spelta* überwiegend (90%) unter dem Mikroskop normal aussehende Pollenkörner ergab. Diese Körner können aber nicht alle gleich funktionsfähig sein, wie KIHARA und WAKAKUWA meinen. Nur 11–12% Pollen der oben genannten Bastarde (*T. vulgare* × *T. dicoccum* usw.) haben auf den eigenen Narben gekeimt (THOMPSON und ARMSTRONG, 1932). In meinem Versuch I (Tab. 1) liessen auch die Pollen des Bastards *T. polonicum* × *T. spelta* nur geringe Keimfähigkeit (13–15%) auf den verschiedenen Narben erkennen. Wie die Zertationskreuzungen ergeben, dürften die euploiden Pollenkörner gut keimfähig sein, während viele Körner mit aneuploiden intermediären Chromosomenzahlen nicht keimen (vgl. VI. Mitt.).

Die Pollenkörner von *T. spelta* waren auf den verschiedenen Narben deutlich keimfähiger als die von *T. polonicum*. Die letzteren Pollen haben besonders auf *T. spelta*-Narben schwache Keimung gezeigt. Dies stimmt damit überein, dass bei der Kreuzung *T. polonicum* × *T. spelta*, wenn *T. spelta* als Pollenträger und *T. polonicum* als Mutter benutzt wurden, der Samenkörneransatz viel besser ist als in der reziproken Kreuzung.

Beim Versuch mit gemischtem Pollen zeigten auch die grösseren Körner (vielleicht von *T. spelta*) eine höhere Keimung als die kleineren (vielleicht von *T. polonicum*). Ferner waren die grösseren Körner des Bastards (wahrscheinlich mit höheren Chromosomenzahlen) deutlich tüchtiger als die kleineren. Dieses Verhältnis wurde aus den Zertationskreuzungen bestätigt (vgl. VI. Mitt.).

Die Ergebnisse des Versuchs II sind nun wie folgt abzuleiten. In den Versuchen *T. polonicum* × (*polonicum* + *spelta*) müssen wir das Zahlenverhältnis hinsichtlich der Gestalt der Samenkörner benutzen, um die Befruchtungsfähigkeit von *T. polonicum* mit der von *T. spelta* zu vergleichen. Das Verhältnis im Versuch *T. polonicum* × (1 *polonicum* + 1 *spelta*) war 1:17.5. Das Ergebnis des Versuchs *T. polonicum* × (5 *polonicum* + 1 *spelta*) ist wenig zuverlässig, weil nur eine Aehre bei dem Versuch verwandt wurde. Im Versuch *T. polonicum* × (10 *polonicum* + 1 *spelta*) war dieses Verhältnis wieder 1:1.23 und demnach dürfte das der befruchteten Pollen von *T. polonicum* und *T. spelta* 1:12.3 sein.

Das Verhältnis in den Versuchen von *T. spelta* als Narbenpflanze wurde durch die Aehren der reifen Pflanzen bestimmt (Tab. 3). Im

Versuch *T. spelta* × (1 *polonicum* + 1 *spelta*) bzw. *T. spelta* × (10 *polonicum* + 1 *spelta*) war das Verhältnis der befruchteten Pollen von *T. polonicum* und *T. spelta* 1:14.6 bzw. 1:9.8, während im Versuch *T. spelta* × (5 *polonicum* + 1 *spelta*) die Pollen von *T. spelta* merklich tüchtiger als die von *T. polonicum*, verglichen mit anderen Fällen, zu sein scheinen. In diesem Fall ist aber der Körneransatz niedriger als in anderen Fällen. Wir berücksichtigen daher hier nicht das Ergebnis dieses Ausnahmefalles.

Aus Zusatzversuchen mit viererlei gemischten Pollen konnten wir auch bestätigen, dass die Dinkelpollen ungefähr 11–14 mal so tüchtig wie die Emmerpollen sind. Von den Emmerarten waren ferner die Pollen von *T. durum* tüchtiger als die von *T. polonicum*, während bei den Dinkelarten die Befruchtungsfähigkeit der Pollen von *T. spelta* grösser als die von *T. vulgare* war.

Endlich müsste die Befruchtungsfähigkeit der Pollen von *T. spelta* ungefähr 10–17 mal so gross sein wie die der *T. polonicum*-Pollen. Die Ergebnisse der obigen Versuche stellten sich durchaus nicht verschieden dar, ob nun *T. polonicum* oder *T. spelta* als Narbenpflanzen verwandt wurden. Dies müsste auf den verhältnismässig hohen körneransatz bei der Kreuzung beruhen, wobei eine sehr scharfe Konkurrenz zwischen den Pollenkörnern von *T. polonicum* und *T. spelta* zustande kommt. In einem derart scharfen Kampf müssen die unvergleichlich tüchtigeren Pollen von *T. spelta* die Oberhand gewinnen. Diese Ergebnisse stimmen im grossen und ganzen mit denjenigen der Zertationskreuzungen des Bastards *T. polonicum* × *T. spelta* überein (vgl. VI. Mitt.).

Nach KIHARA (1932) sind 101 Nichtbastarde und 90 Bastarde im Versuch *T. durum* × (*durum* + *vulgare*) gefunden worden. 41 Samen haben nicht gekeimt (*ca.* 18.4%). Wenn wir alle ungekeimten Samen als Kombinationen von *T. durum* ♀ + *T. vulgare* ♂ betrachten, wird die Zahl des Bastardtyps auf 131 erhöht. Dagegen waren im Versuch *T. vulgare* × (*durum* + *vulgare*) 248 Pflanzen vom *T. vulgare*- und 26 vom Bastardtyp. Nur 11 Körner haben nicht gekeimt.

Trotz der Korrektur betreffs der Keimung stehen die von KIHARA erzielten Ergebnisse bei beiden Versuchen mit *T. durum* und *T. vulgare* als Narbenpflanzen nicht im Einklang miteinander. Demnach dürfte im Gegensatz zu meinem mit *T. polonicum* und *T. spelta* gewonnenem Ergebnis die Tendenz zur selektiven Befruchtung der Embryosäcke von *T. durum* durch die gleichchromosomigen Pollen von deutlichem Einfluss sein. Klar ist jedoch, dass die Pollen von *T. vulgare* merklich tüchtiger als die von *T. durum* sind, nicht aber so deutlich wie die Befruchtungsfähigkeit der *T. spelta*-Pollen, die 10–17 mal so gross ist wie die der *T. polonicum*-Pollen (vgl. IX. Mitt.).

Zusammenfassung

1. Der Verfasser hat Keimungsversuche mit den Pollenkörnern von *T. polonicum, T. spelta* und F_1-Bastard (*T. polonicum* × *T. spelta*) sowie mit gemischten Pollen von *T. polonicum* und *T. spelta* auf den *T. polonicum-, T. spelta-* und F_1-Narben ausgeführt (Abb. 1).

2. Die Pollenkörner von *T. spelta* sind auf den verschiedenen Narben merklich keimfähiger als die von *T. polonicum*. Beim Versuch mit gemischtem Pollen zeigen auch die grösseren Körner (vielleicht von *T. spelta*) eine höhere Keimung als die kleineren (vielleicht von *T. polonicum*). Die Pollen des Bastards besitzen aber nur geringe Keimfähigkeit, und zwar sind die grösseren deutlich tüchtiger als die kleineren (Tab. 1).

3. Durch Konkurrenzversuche wurde die Befruchtungsfähigkeit der *T. polonicum*-Pollen mit der der *T. spelta*-Pollen auf den *T. polonicum-* und *T. spelta*-Narben verglichen, wobei der gemischte Pollen von 10 *T. polonicum-* und 1 *T. spelta*-Antheren sowie 5 *T. polonicum-* und 1 *T. spelta*-Antheren ausser demjenigen in gleicher Anzahl der beiden Antheren benutzt wurde.

4. In den Versuchen *T. polonicum* × (*polonicum* + *spelta*) wurde das Zahlenverhältnis der befruchteten Pollen von *T. polonicum* und *T. spelta* durch die Gestalt der Samen bestimmt. Dieses Verhältnis wurde in den Versuchen *T. spelta* × (*polonicum* + *spelta*) nach dem Aehrenschieben beobachtet. Die Resultate, die sich in diesen zwei Fällen ergeben, stimmen im grossen und ganzen überein. Hieraus darf ich wohl schliessen, dass die Befruchtungsfähigkeit der *T. spelta*-Pollen ungefähr 10–17 mal so gross ist wie die der *T. polonicum*-Pollen. Dieses Verhältnis steht auch im Einklang mit dem der Zertationskreuzungen des Pollens vom Bastard *T. polonicum* × *T. spelta* zu den Eltern in der VI. Mitteilung.

5. In den Zusatzversuchen mit gemischtem Pollen von *T. polonicum* und *T. durum* als Emmerart sowie von *T. vulgare* und *T. spelta* als Dinkelart wurden ähnliche Ergebnisse erhalten. Die Pollen der Dinkelart waren nämlich ungefähr 11–14 mal so tüchtig wie die Emmerpollen. Ferner war bei der Emmerart der Pollen von *T. durum* bzw. bei der Dinkelart der von *T. spelta* tüchtiger als der von *T. polonicum* bzw. der von *T. vulgare*. Diese Ergebnisse stimmen auch mit denjenigen der IX. Mitteilung überein.

Diese Untersuchungen wurden unter Leitung von Herrn Prof. Dr. H. KIHARA ausgeführt, dem ich auch an dieser Stelle meinen herzlichen Dank aussprechen möchte.

Zitierte Literatur

KIHARA, H. 1932. Weitere Untersuchungen über die pentaploiden *Triticum*-Bastarde. II. Japan. Journ. Bot. **6**.

KIHARA, H. und WAKAKUWA, SH. 1935. Idem. IV. Ibid. **7**.

MATSUMURA, S. 1936. Idem. VI. Ibid. **8**.

——— 1938. Idem. VIII. Ibid. **9**.

——— 1939a. Idem. IX. Ibid. **9**.

——— 1939b. 20jährige zytogenetische Untersuchung des pentaploiden Weizenbastards zwischen Emmer- und Dinkelreihen. Züchter **11**.

THOMPSON, W. P. and ARMSTRONG, J. M. 1932. Studies on the failure of hybrids germ cells of function in wheat species crosses. Canad. Journ. Res. **6**.

ABSTRACTS

Explanation of Abbreviations of the Journals' Names referred in the Abstracts of Vol. X

Abbreviations	*Names of Journals*
A.H.	Agriculture and Horticulture (農業及園藝)
A.PP.S.J.	Annals of the Phytopathological Society of Japan (日本植物病理學會報)
A.PT.G.	Acta Phytotaxonomica et Geobotanica (植物分類地理)
A.R.F.	Agricultural Reports of Formosa (臺灣農事報)
A.S.	Agronomic Studies (農學研究)
B.I.P.C.R.	Bulletin of the Institute of Physical and Chemical Research (理化學研究所彙報)
B.M.T.	The Botanical Magazine (Tôkyô) (植物學雜誌)
B.Ô.L.F.	Berichte des Ôhara Instituts für landwirtschaftliche Forschungen
B.S.F.T., K.I.U.	Bultenó Scienca de la Fakultato Terkultura, Kyûsyû Imperia Universitato (九州帝國大學農學部學藝雜誌)
B.T.S.M.	Bulletin of the Tokyo Science Museum (東京科學博物館研究報告)
B.Z.	Botany and Zoology (植物及動物)
Cyt.	Cytologia
E.R.	Ecological Review (生態學研究)
J.A.E.S.K.	Journal of the Agricultural Experiment Station of Korea (朝鮮總督府農事試驗場彙報)
Jap.J.B.	Japanese Journal of Botany
J.C.A., T.I.U.	Journal of the College of Agriculture, Tokyo Imperial University
J.F.A., H.I.U.	Journal of the Faculty of Agriculture, Hokkaido Imperial University
J.Jap.B.	Journal of Japanese Botany (植物研究雜誌)
J.J.G.	Journal of Genetics (遺傳學雜誌)
J.L.	Journal of Limnology (陸水學雜誌)
J.S.H.U.	Journal of Science of the Hirosima University
J.S.S.A.F.	Journal of the Sapporo Society of Agriculture and Forestry (札幌農林學會報)
J.S.T.A.	Journal of the Society of Tropical Agriculture (熱帶農業會誌)

M.C.S., K.I.U.	Memoirs of the College of Science, Kyoto Imperial University
P.C.S.S.J.	Proceedings of the Crop Science Society of Japan (日本作物學會紀事)
P.I.A.	Proceedings of the Imperial Academy
P.J.S.A.S.	Proceedings of the Japanese Society for the Advancement of Sciences (日本學術協會報告)
R.B.C.E.F., C.A., H.I.U.	Research Bulletin of the College Experiment Forest, College of Agriculture, Hokkaido Imperial University (北海道帝國大學演習林研究報告)
R.B.T.I.S.C.	Research Bulletin of the Tokyo Imperial Sericultural College (東京高等蠶絲學校研究報告)
Sc. Rpts., T.BR.D.	Science Reports of the Tokyo Bunrika Daigaku, Section B
Sc. Rpts., T.I.U.	Science Reports, Tôhoku Imperial University, Ser. IV
S.S.I.	Science of Southern Islands (科學南洋)
T.N.H.S.F.	Transactions of the Natural History Society of Formosa (臺灣博物學會報)
T.S.H.N.H.S.	Transactions of the Sapporo Natural History Society (札幌博物學會報)

Abstracts Nos. 118-271

(Referring mostly to the principal papers in Botany and allied subjects which have appeared in Japan during January–June 1939)

118. Untersuchungen über die Rhizosphäre der Pflanzen. Zweiter Bericht. Ueber die verschiedenen Kulturpflanzen auf die Mikrobenzahl der verschiedenen Bodenarten in Formosa. Masasi ADATI. (J.S.T.A. **11**, 1939, 57–65).

Der Verf. fasst die Resultate seiner Untersuchungen wie folgt zusammen:—

Die Einflüsse einiger Kulturpflanzen, wie Gerste, Weizen, Hafer, Roggen, Sojabohnen, Rotbohnen, Weissbohnen, Erbsen, Buchweizen, Maispflanzen, Tomaten, Eierpflanzen auf die Mikrobenzahl der typischen formosaischen Bodenerde, wie Sand-, Ton-, Lehm, und Humusboden, wurden untersucht. Zwischen diesen Bodenarten ist die Differenz der Mikrobenzahl von Edaphon im Vergleich der Rhizosphäre I (entfernte Umgebung der Wurzeln) und der Rhizosphäre II (direkte Umgebung) im Sandboden grösser als im Humusboden und lässt sich in verminderter Reihe wie folgt anordnen: Sand-, Lehm-, Ton- und Humusboden.

119. On the anatomy of galls on *Crepis japonica* caused by *Protomyces Inouyei*. (Japanese with English résumé). Shigeyasu AKAI. (B.Z. **7**, 1939, 875–882, 9 text-figs.).

Stems, petioles, leaves of *Crepis japonica* which are attacked by *Protomyces Inouyei* are induced to gall formation. Galls are variously shaped, and contain innumerable chlamydospores. In such case not only do the cells undergo the hypertrophy, but also they multiply copiously, so that the change in the regular arrangement of the affected cells takes place, such a change being due, as the author thinks, to the osmomorphosis. Thus, for instance, the epidermis and the cortex subjected to osmotic pressure from the interior are compelled to elongate tangentially or even to break down. The new formation of parenchymatous strands in the portion of young pith, which usually extend vertically in unevenly fashion, is the remarkable feature. They are whorl-like in their structure, and contain the chlamydospores of the causal fungus. These strands often form leptocentric vascular bundles.

Cell-walls in such portions of pith show often secondary thickenings. They have sometimes no connections with vascular elements, but are sometimes connected to xylem elements. They are either tracheids or tracheae.

120. Studies on the pathological anatomy of the hypertrophied buds of *Camellia japonica* caused by *Exobasidium Camelliae*. (Japanese with English résumé). Shigeyasu AKAI. (B.M.T. **53**, 1939, 118–124, 6 text-figs.).

The hymenium of the causal fungus under question forms a continuous layer over the whole surface of the deformed bud of the host. It develops in the intercellular spaces of the cortex and is covered with some subepidermal layers. The latter breaks into a number of small pieces, the hymenium being thus exposed. Both hypertrophy and hyperplasia of the cells occur, and the proper cell arrangement is disturbed. Epidermal and subepidermal cells of the cortex expand tangentially, while the cortex cells under the hymenium elongate radially. In the cortex new vascular bundles are formed, which are collateral, bicollateral, and sometimes are of lepto- or hadro-centric structure.

121. On the anatomy of *Protomyces* galls of peduncles of Dandelion. (Japanese). Shigeyasu AKAI. (J. Jap. B. **18**, 1939, 84–86, 1 text-fig.).

Owing to the invasion of *Protomyces pachydermus* the peduncles of *Taraxacum* become thickened, even as much as five times as in healthy ones. Though the cells do not increase copiously, they undergo the hypertrophy, especially those of the vascular bundles. The result of this hypertrophy is the pressure coming from the interior part, consequently epidermal as well as cortical cells are stretched tangentially, while a part of the latter and cells composing the primary medullary rays elongate in radial direction, protrude out externally towards the pith cavity, where the pressure will be minimum.

122. The intervarieta' difference and the effect of environmental factors in respect to sterility in paddy rice. (Japanese with English résumé). M. AKEMINE and Y. HOSHIKA. (Special Bull. Exp. Farm, Hokkaido Imp. Univ. No. **7**, 1939, 151 pp., 9 text-figs. and 75 tables).

This paper contains the results of the authors' experimental studies executed during 14 years (1923–1936) on 32 varieties of paddy rice concerning their sterility.

The results which consist chiefly of quantitative data are briefly summarized as follows.

The degree of sterility which is variable in different years is 25-30%, 15-20%, and 10–15%; it is also variable in different varieties, the difference of low and high sterility amounting to ± 17%, mostly however 20%. No correlation was observed between the sterility and the morphological characters, such as awn length, endosperm character (glutinous or non-glutinous), the presence or absence of anthocyanin, or the physiological character, such as the heading time. The number of kernels per panicle which is variable in different years is 90-100 on the average, and its difference between the maximum and minimum is ± 38. Some correlation is present between the whole number of kernels and filled or empty ones of each panicle, while that between filled and empty kernels is quite irregular.

In contradiction to the expectation there is a high negative correlation between the air temperature at the panicle-forming time and the kernel number, and consequently also the percentage of sterility; in respect to the latter fact some varieties are very sensitive towards the influence of air temperature, while others are very slightly affected by it. High humidity was found to lead to the increase of the percentage of sterility, and according to the authors it is likely that humidity higher than 84% is not favourable for the fertility of rice spikelets. Finally long sunshine at the growing period (not in the flowering period) leads to the reduction of the sterility percentage. Though three climatic factors, viz. air temperature, humidity, and sunshine combine to affect the sterility percentage, the effect of the first factor is most prominent, so that that percentage may be safely predicted by the consideration of the air temperature alone in the growing period.

123. Analysis of variance as applied to the intervarietal difference of sterility in paddy rice. (Japanese with English résumé). M. AKEMINE. (J S S.A.F. **31**, 1939, 1-14, 9 tables).

The analysis of variance has been performed on 30 out of 32 varieties of paddy rice mentioned in No. 122. For that purpose SNEDECOR's F-value was computed throughout instead of the FISHER's z. The varieties just indicated were classified into 4 groups according to the maturing time, and the variance analysis was applied to each of them, and it was ascertained that in every case the difference of sterility

between several varieties belonging to each group is inherent to it. In respect to the sterility percentage the varieties above indicated were classified into 12 ranks, the 10 varieties among them being distinguished by their low sterility percentage, and therefore belonging to the last of 12 ranks. The inter-annual difference of sterility percentage for fourteen years is quite significant, as was further ascertained by the variance analysis; fourteen years were classified into eight classes according to the respective sterility percentage.

124. Einige Versuche über die Beschleunigung des Aufblühens bei der Süsskartoffel (*Ipomoea Batatas*). (Japanisch). Sinzirô AKIMOTO. (A.H. **11**, 1939, 993–998, 9 Textabb. u. 5 Tab.).

Die Züchtung der Süsskartoffel muss, ebenso wie bei den anderen landwirtschaftlichen Kulturpflanzen, hauptsächlich mittelst der Kreuzung verschiedener Sippen ausgeführt werden. Als doch im eigentlichen Japan diese Pflanze selten blüht, hat der Verf einige Versuche gemacht, um das Aufblünen derselben zu beschleunigen. Die Methode war dreierlei, nämlich, Pfropfen auf eine systematisch verwandte knollenlose Pflanze, Wasserkultur und Kurztagsbehandlung. Der Verf. hat durch die erste Methode die besten Resultate bekommen, obgleich sie nach den Sippen verschieden ausfallen können. Besonders war das Pfropfen der Süsskartoffel als Reis auf *Pharbitis Nil* als Unterlage erfolgreich. Weniger erfolgreich war die Behamlung durch die zweite und die dritte Methode, wenn nicht ganz erfolglos.

Durch die Selbstbefruchtung der in obiger Weise bekommenen Blüten war die Fruchtungsrate 5% in besten Fällen und nur 0,8% in einem anderen. Dagegen, durch die Kreuzbefruchtung war diese Rate weit höher, z.B. 16,3-58,1%.

125. On the systematic anatomy of the leaves of some Japanese Carices XVIII, XIX, XX. (Japanese with English résumé). Shigeo AKIYAMA. (B.M.T. **53,** 1939, 72–78, 3 text-fig. groups, 114–118, 2 text-fig. groups, 257–263, 4 text-fig. groups).

The anatomical characters of leaves of the following species of *Carex* are described to serve for their classification: *Carex Nakaii, sendaica, brunnea, sacrosancta, Hattoriana, autumnalis, subteriogyna, scabriculmis, Kobomugi, macrocephala, flabellata, kiotensis,* and *phaeopoda.*

126. Physiologisch-anatomische Untersuchungen über die Wachstumsverhältnisse des Mesokotyls von Gramineen im Dunk l und bei der Belichtung. Toru ARAKI. (Jap. J.B. **10**, 1939, 69–112, 45 Textfiguren).

127. Ueber den Chemismus der Flechten der Cocciferae (*Cladonia* Subgenus *Cenomyce*). Yasuhiko ASAHINA. (J. Jap. Bot. **15**, 1939, 22–36, 2 Textfiguren).

Für die Unterschiedung der Flechten hat ZOPF zum ersten Male die chemische Methode versucht. Seine Methode ist aber makrochemisch, und der Verf. betont die Vorzüglichkeit seiner mikrochemischen Methoden gegenüber den ZOPFschen. Im vorliegenden Aufsatz hat er inbezug auf 16 Cladonienarten (Subgenus *Cenomyce*, Ser. *Cocciferae*) seine Untersuchungsresultate näher beschrieben, und sie mit den ZOPFschen Angaben verglichen. Es ist unmöglich, alle Resultate des Verfs. zu zitieren, und unten sind bloss einige interessante Resultate kurz mitgeteilt als das Muster. Bie *Cladonia coccifera* (L.) WILLD. var. *stemmatina* fand ZOPF Coccellsäure und Ceromycein, welche nach den neueren Untersuchungen nichts anders als Barbatinsäure zu sein scheinen. Der Verf. hat meistens diese Resultate bestätigten können. Bei einigen Arten, aber, ist das Zeorin statt der Barbatinsäure nachgewiesen worden. Solche Exemplare

müssen nach der Verfs. Ansicht eigentlich *Cl. pleurota* sein, welche irrtümlicherweise mit *Cl. coccifera* identifiziert ist.

Bei *Cl. bellidiflora* (ACH.) SCHAER. fand ZOPF die Squamatsäure, das Zeorin und das Bellidiflorin. Der Verf. konnte dank seinen Methoden die Squatmatsäure und das Bellidiflorin nachweisen, aber gar kein Zeorin, was den Verf. zur Annahme führte, dass das ZOPFsche Material mit etwas zeorinhaltigen Flechten verunreinigt sein sollte. Fur alle andere Angaben sei auf das Original verwiesen.

128. *Ramalina*-Arten aus Japan (II). *Myelopoea* WAIN.-*Compressisculae* WAIN., Yasuhiko ASAHINA. (Japanisch m. latein. Diagnosen). (J. Jap. B. **15**, 1939, 205–223, 17 Textfig.).

Die folgenden neuen Arten sind unter anderen ausführlich beschrieben: *Ramalina pacifica, R. subbreviuscula, R. litoralis, R. sublitoralis,* und *R. exilis.*

129. Lichenologische Notizen (XI). Ist *Chaudhuria* ZAHLBR. wirklich eine selbständige Gattung? (M. japan. Zfg.). Yasuhiko ASAHINA. (J. Jap. B. **15**, 1939, 277–280).

Neuerdings hat der Verf. die Exemplare von *Chaudhuria indica* A. ZAHLBR. aus Darjeeling, Indien bekommen. Nach seiner Ansicht ähnelt diese Flechte stark *Anaptychia speciosa* f. *compactior*, welche auch in Japan einheimisch ist, und sie ist offenbar unter *Anaptychia* einzureihen; sie gehört keineswegs zu einer neuen Gattung *Chaudhuria*. Nach ZAHLBRUCKNER sollen die Gonidien seiner *Chaudhuria* die Blaualgen sein, doch als nach dem Verf. diese Gonidien grün statt blaugrün sind, und weiter darin ein Zellkern nachgewiesen worden ist, gehören sie offenbar zu den grünen Algen. ZAHLBRUCKNER hat auch als eine ganz auffällige Eigenschaft die Blaufärbung der Rinde durch Joh hervorgehoben, aber diese Eigenschaft ist bei den *Anaptychia*-Arten nicht selten zu sehen.

130. *Cornicularia*-Arten aus Japan. (Japanisch m. latein. Diagnose). Yasuhiko ASAHINA. (J. Jap. B. **15**, 1939, 353–358, 7 Textfig.).

Unter 5 aufgezählten und beschriebenen Arten und Varietäten der japanischen *Cornicularia*-Gattung ist *C. pseudosatoana* eine neue Art.

131. Thermal stimulation and the thermal adaptation of *Aldrovanda* leaves with a note on cold rigor. Zyozi ASIDA. (M.C.S., K.I.U. **14**, 1939, 353–386, 9 text-figs.).

Formerly the author has published his stimulus experiments on leaves of *Aldrovanda vesiculosa* (cf. this JOURNAL **8**, (1), No. 2). Similar experiments have been executed this time again with improved methods, which are described at the beginning of the present paper.

The author's first experiments consist in subjecting leaves of *Aldrovanda* to a sudden temperature change and determining the minimum temperature difference (= threshold temperature difference) for the occurrence of their shutting reaction. From such experiments it was seen, firstly, that the threashold temperature differences are smaller in the case of sudden rise of temperature than in that of sudden fall, secondly, that the higher (the lower) the temperature to which leaves are adapted, the more sensitive are they to its rise (fall) and less so to its fall (rise), and thirdly, that old leaves are less sensitive in this respect than young ones. As just above stated in the second item, the higher the initial temperature, the more sensitive are leaves towards the sudden temperature change; and this is just the reverse of what might be expected on the basis of the well-known WEBER's law concerning the irritability, where the stronger the stimulus, the greater should be the threshold difference for its discrimination.

The author's second experiments are concerned with the thermal adaptation of leaves. When the latter which have been transferred from t_1 to t_2 temperature (where $t_2>t_1$ e.g.$t_2=40°$, $t_1=30°$) are treated by a third temperature t_3 where $t_3> t_2$, the threshold temperature in respect to this treatment will not be much different from before after a slight time lapse (e.g. ½ min.), but it will gradually grow up as the time goes on, which is the result of the thermal adaptation of leaves to higher t_2 temperature. In the similar case, if $t_3 <t_2$, the threshold temperature will remain nearly the same as before at first, but it will gradually fall as the time goes on, just the reverse as in the former case. For this some concrete instances are given by the author in the case of the transfer of leaves from 20° to 30°: they will not be stimulated by a second transfer even into 17° (t_3) after ½ minute, but the threshold gradually begins to change, so that afterwards even the transfer to 23° only suffices to stimulate them, which means the shifting of the threshold with the time on account of thermal adaptation.

Some experiments were made to test whether leaves will be made quite insensitive to stimulation by the application of extremely low temperature. By the use of the refrigerator leaves were cooled down. Many were seen to shut by this stimulation, and even near 1° many have executed the shutting motion. Leaves which stayed one day at 0.5° or 1° were often found to react against the electrical or mechanical shock, though the response was very slow. Among 59 leaves in all put at 5°, only 3 were seen to react neither towards electrical nor mechanical stimulation. The author concludes that in all it is difficult to put *Aldrovanda* leaves in the state of cold rigor.

For further details and theoretical discussion cf. the original paper.

132. On the period of infection of wheat seedlings by leaf rust, *Puccinia rubigo-vera tritici*. (Japanese with English résumé). Hidebumi ASUYAMA. (A.PP.S.J. 8, 1939, 298–308).

Seedlings of wheat, inoculated with the urediospores of *Puccinia rubigo-versa tritici* were kept within a moist chamber under various temperatures, and a number of observations were performed. Below some results concerning the time of the occurrence of principal processes of infection after inoculation under certain temperatures will be cited, though for further details the reader should consult the original paper.

The urediospores germinate within 1 hour under 28°C, appressoria are formed generally 3 hours after inoculation. The tubes were found to penetrate very frequently after 6-9 hours, and after 24 hours the appressoria are generally provided with the tubes which enter the stomata. 9 hours after inoculation, infection hyphae are produced, and after 20 hours the haustorium is formed.

133. Two kinds of cones from the Neogene of Japan. (Japanese). Seidô ENDÔ and Haruo OKUTSU. (B.Z. 7, 1939, 573–580, 1 text-fig.-group).

It is well known that the flora of the Tertiary in Japan is very different from that of the present time, and resembles rather that of N. America and China at the present. Several fossils recently discovered in the vicinity of Sendai point towards this direction; thus, for instance, the fossil species from Sendai, such as *Juglans cinerea* L., *Liriodendron honsyûensis* ENDÔ, *Sassfras Yabei* ENDÔ et OKUTSU are related to living species, *Juglans cinerea* L., *Liriodendron tulipifera* L., *Sassafras variifolium* NIL. from N. America respectively, while the fossil species *Glyptostrobus europaeus* HEER and *Catalpa ovata* G. DON. are related to living species *Glyptostrobus perisilis* K. KOCH and

Catalpa ovata G DON. from China respectively. The two new species, of which the description and the discussion are contained in this paper are as follows: The fossil cone *Abies* cfr. *balsamea* MILL. from the vicinity of Sendai seems to be almost, though not wholly, identical to *A. balsamea* now living and widely distributed in N. America. *Pinus hokkaidôense* sp. nov. ENDÔ et OKUTSU is another fossil species found in Hokkaidô; neither its identification to the living species is possible, nor any fossil *Pinus* cone resembling it does exist at present.

134. Statistische Untersuchungen über den Divergenzwinkel bei den schraubigen Organstellungen. Tetsuo FUJITA. (B.M.T. **53**, 1939, 194–199+1, 9 Textfig. und 1 Taf.).

Der Verf. hat bei 30 Blütenpflanzenarten die Divergenzwinkel der schraubigen Organstellungen am Vegetationsscheitel statistisch gemessen, und die Resultate davon sind tabellarisch sowie graphisch dargestellt. Die Zusammenfassung der Arbeit nach dem Verf. steht wie folgt.

Die Divergenz erreicht am häufigsten den Grenzwert 137° 30′ 28″, 68° 45′ 14″ oder 99° 30″ 6″, je nach den Zahlenreihen, wenngleich stets mit ziemlich grosser Variation. Ob aber bei den regelmässigen Schraubenstellungen die Limitdivergenz wirklich der primäre Faktor ist oder nicht, bedarf noch weiteren Untersuchungen. Auf Grunde obiger Ergebnisse schliesst Verf., dass im allgemeinen die übliche Divergenzbestimmung nach der SCHIMPER-BRAUNschen Methoden bloss imaginär und keine natürliche ist.

135. Ueber die Organstellungen bei Maiskolben. Tetsuo FUJITA. (Jap. J.B. **10**, 1939, 113–140, 31 Textfiguren).

136. Retention of virus by the insect vectors through several generations. Teikichi FUKUSHI. (P.I.A. **15**, 1939, 142–145, 1 text-fig. and 1 table).

Some time ago the author has published his experimental results concerning the transmission of dwarf disease in rice plants by the egg of the leafhopper *Nephotettix apicalis* (cf. this JOURNAL **7**, (3), No. 9). Through exactly the same treatment he could observe the transmission of the virus through the eggs to the progeny of the third and fourth generation (each two cases) and even of the seventh generation (one case).

It was further observed that the female leafhoppers which were proven to be non-infective throughout their entire life have produced infective progeny. This is due, as the author thinks, to the influence of low temperature, where the insects are fed. In the case, where the temperatur is low, the virus may be more or less localized in its distribution and movement through the insect body; it is possible that in some individuals it may be localized, not in the salivary glands, but in ovarian tubules to give rise to viruliferous eggs, and such individuals may prove to be non-infective, but to produce infective eggs.

137. Relation of aphids to the transmission of legume mosaics (2). (Japanese with English résumé). Teikichi FUKUSHI. (J.S.S.A.F. **30**, 1939, 401–418).

Some time ago the author has announced his experiments on the transmission of mosaic disease of leguminous plants by the agency of aphids, *Myzus persicae* SULZ. (cf. this JOURNAL **9**, (102), No. 340). The present article refers to the same subject, but relates to the other kinds of aphids. Thus, for instance, *Aphis laburni* will transmit the red clover mosaics to pea, broad bean, bean, crimson and alsike clover. This

behaviour of this aphid is very similar in various respect to that of *Myzus*, as was described before (cf. above). Though it is probable that the aphid *Aphis laburni* plays a great rôle in the transmission of the virus in the outbreak of broad bean mosaics in Honsyû, the broad bean in Hokkaidô is entirely free from the infestation of this aphid, which will explain the rarity of this disease in Hokkaidô.

Of *Macrosiphon matsumureanum* HORI and *Acyrtosiphon kondoi* SHINJI which are found on red clovers in Hokkaidô, the former was proven to transmit red clover mosaics to pea, white and alsike clover, and the latter to pea, bean and crimson clover.

Experiments hitherto made to transmit the mosaics of red clover, pea and broad bean to pea and broad bean by the agency of *Acyrtosiphon pisi* were never successful.

The question, whether the mosaic disease of red clover, pea and broad bean is due to one and the same virus, is not yet decided definitely, but probable, when it is considered, for instance, that the mode of insect transmission resembles very much to each other, and also the cross inoculation is possible to each plant, etc.

138. Acenaphthene as a polyploidizing agent. Eiji FUKUSHIMA. (P.I.A. **15**, 1939, 98-100, 8 text-figs.).

The effect of the treatment of shoots bearing flower-buds in *Brassica alboglabra* (2n=18) with acenaphthene is described. After nearly 50 days' treatment the author got some anthers, where besides the normal pollen grains three distinct kinds of giant ones were contained. Their volumes are as 1:2.2:4.1:8, which may be inferred as haploid, diploid, tetraploid and octoploid respectively. Basing on these results the author comes to the conclusion that the vapour of acenaphthene induces very effectively young archesporium to the production of polyploid pollen grains.

139. The sex ratio of spinach. (Japanese). Tutomu HAGA. (B.Z. **6**, 1938, 1573–1574, 1 text-fig.-group).

Each of the two authors, viz. ROSA and NOHARA, has formerly found in spinach that the relative number of females and males is almost equal; the former author has got besides 0.2% hermaphrodites. The experiments of the present author on 12 commercial races of the spinach have given in total 673♂: 529♀: 105⚥=51.8%♂: 40.5%♀: 8.0%⚥; which is somewhat different from the data of ROSA and NOHARA.

140. A new gene "crimpled 4" in linkage with a gene for speckled flower in *Pharbitis Nil*. (Japanese with English résumé). Tokio HAGIWARA. (J.J.G. **15**, 1939, 86–90).

For the well-known leaf characters in *Pharbitis Nil* characterized by its uneven surface called crimpled, three kinds of genes have been hitherto identified, viz. c_1, c_2 and c_3. The author has discovered now a fourth crimpled gene c_4. The latter was found by means of cross experiments to be linked to white flower (c) with the recombination frequency of 31.4% and to speckled (s_{p}) with that of 31.2%, etc.

141. Genes for the colouration of flower-tube in *Pharbitis Nil* CHOIS. with reference to their linkage. (Japanese with English résumé). Tokio HAGIWARA. (B.M.T. **53**, 1939, 212–220).

As regards the white flower-tube in *Pharbitis Nil* two cases are distinguishable, where it behaves as recessive or dominant towards the coloured one respectively. Dominant white genes are $T_{w\text{-}s1}$ and $T_{w\text{-}s2}$ which are complementary to each other for the manifestation of the dominant white flower-tube. The first of the two genes above indicated is linked to the cordate (c_o) with the recombination value 31.1%.

For recessive white flower-tube three duplicate genes are responsible, viz. t_{w1}, t_{w2}, t_{w3}. The action of the dominant gene T_{w2} is inhibited by the cooperation of the two genes $t_{w\text{-}s1}$ and $t_{w\text{-}s2}$, giving a dominant white flower-tube. The gene t_{w1} is linked to duskish (d_k) with recombination value 18.0%, to side-reduced (s_r) with that 9.2% and to purple (p_r) with that 33.7%, etc.

142. Distinction of males and females in *Asparagus* by using the solution of potassium chlorate. (Japanese). Tokio HAGIWARA and Heizô KUSAMITU. (A.H. **11**, 1939, 990–992).

The demand for young leaves of *Asparagus officinalis* is increasing from year to year. The female stock of this plant requires much more nutrient matter than the male on account of its fruit formation, and consequently it is said that the male produces 20–30% more young shoots than the female under identical conditions. So in practice it will be much more advantageous to cultivate the male than the female stock after the second or the third year, and we seek naturally for a certain method for distinguishing the males and females in the first year plants. For this purpose the authors have made the experiments by using potassium chlorate solution according to YAMASAKI. The procedure was as follows: 4 shoots, which were cut off from male and female plants respectively, were cultivated in tap-water for 2 days, then inserted in 0.02% solution of potassium chlorate, and placed in the dark chamber for 1-2 days, then placed again into the tap-water and exposed to sunlight near the fenster for 2 days. Male shoots, 4 in all, were found to have faded and leaves to fall down easily by touching. On the contrary, the female plants were found to have remained perfectly healthy just as the control plants.

Thus the fact that in this plant the females are more resistant than the males against the action of potassium chlorate accords with what man has observed in *Fragaria* (YAMAMOTO) and *Papaya* (SISA and KODAIRA).

143. Studien über die Mykorrhiza von *Galeola septentrionalis* REICHENB. f. Ein neuer Fall der Mykorrhiza-Bildung durch intraradikale Rhizomorpha. Minoru HAMADA. (Jap. J.B. **10**, 1937, 152–211, 2 Taf. und 25 Textfiguren).

144. Some anatomical notes on *Cycas revoluta*, especially on its anomalous secondary growth. Tsugio HANDA. (Jap. J.B. **10**, 1939, 285-307, 1 plate and 18 text-figures).

145. Einige Beobachtungen über die Leuchtpilze in den Südinseln. (Japanisch). Yata HANEDA. (S.S.I. **2**, 1939, (116)–(128), 11 Textfiguren).

Die folgenden 8 Arten Leuchtpilze, welche vom Verf. in Palau aufgefunden worden sind, sind nach S. KAWAMURA neu, und wie folgt benannt, nämlich, *Pleurotus lunaillustris*, *Mycena bambusa*, *M. phosphora*, *M. noctilucens*, *M. yabensis*, *M. microillumina*, *Marasmius phosphorus* und *Polyporus Hanedai*.

Die Reinkultur der obigen Pilze auf den mit gewisser Nährlösung durchgetränkten Brotstücken wurde mit Erfolg ausgeführt, wobei die Myzelien üppig vermehrt haben und leuchteten, obgleich die Fruchtkörper nicht entwickelt sind. Dagegen blieb die Kultur auf Agar ganz erfolglos. Inbezug auf die Beziehung zwischen der Temperatur und dem Leuchten ist z.B. 28-34° bei *Pleurotus lunaillustris* dafür optimal, während über 35° das Leuchten allmählich schwächer wird. Bei 50° für 1 Minute verliert der Pilz sein Leuchtensvermögen, welches nicht mehr wieder erlangt werden kann, sogar unter den Wiedereintritt der mässigen Temperatur.

Dagegen, obgleich unter niederer Temperatur, wie 0° der Pilz nur äusserlich schwach leuchtet, kann er wieder normalerweise leuchten, unter den Wiedereintritt höherer Temperatur.

Die Leuchtpilze lassen sich mittelst seines eigenen Lichtes photographieren, so z.B. gibt der Verf. ein klares photographisches Bild von *Mycena bambusa* an, welches bei F 4,5 unter 60 Min. Exponierung hergestellt worden ist. Unter Benutzung einer elektrischen Einrichtung hat er die Lichtintensität bestimmt, so z. B. *Mycena bambusa* 1.09×10^{-5} Lux, *Polyporus Hanedai* 115×10^{-5} Lux, *Pleurotus lunaillustris* $7{,}66 \times 10^{-5}$ Lux usw. Die Farbe des von den Pilzen ausgehenden Lichtes ist verschieden, blauweiss, blaugrün, gelblich blauweiss, rot usw. Der Verf. hat die Spektralphotographie des Pilzlichtes ausgeführt, um die Grenze von Wellenlängen bei verschiedenen Pilzen zu bestimmen. So z.B. bei *Mycena bambusa*, *Pleurotus lunaillustris* und *Polyporus Hanedai* beträgt die Wellenlänge des von ihnen ausgegebenen Lichtes 449-658 mμ, und zwar am stärksten bei 520 mμ. Um diese Wellenlänge mit derselben einiger leuchtenden Tierarten zu zergleichen, zitiert der Verf. z.B. japanische Leuchtkäfer *Luciola cruciata* 510–696 mμ, Leuchtbakterien aus dem Meeresfisch *Coelorhynchus kishinouyei* 442–569 mμ usw. Das Spektrum der Leuchtpilze ist kontinuerlich (d. h. ohne hellen Linien), ähnlich demselben bei den anderen Organismen.

146. Investigation on the development of resin canals and the formation of latex in the mesocarp of fruits of the *Rhus* plants found in Japan. (Japanese with English résumé). Morisige HARADA. (B.S.F.T., K.I.U. 8, 1939, 179-191, 1 pl.).

Hitherto the development of resin canals and the formation of latex in the Japanese *Rhus* plants were exclusively studied on leaf and stem of *R. vernicifera*. The author has performed similar investigation on the fruits of six spceies of *Rhus*.

In very young fruits of all species of *Rhus* examined by the author, the groups of special cells which are clearly distinguishable from the neighbouring ones by their smallness, etc. are developed in the mesocarp. Each group produces in its centre a small cavity in schizogenous way, which is the initial stage of the resin canal. In *Rhus Toxicodendron* var. *vulgaris*, as the fruit grows, its fusion with that which has been formed in still earlier stage and is lying inside the latter, takes place on account of the decay of the parenchyma connecting both, giving rise to large resin-canal (lysigenous way of the resin canal formation).

In young fruits of *R. succedanea*, *sylvestris*, *vernicifera* and *Osbeckii* the lysigenous process also occurs, but much later than in *R. Toxicodendron* var. *vulgaris* above indicated.

The parenchymatous sheath is developed around each resin canal. The cells composing the latter are in *Rhus Toxicodendron* var. *vulgaris*, for instance, arranged loosely and irregularly and contain many granular substances. These cells separate singly or in groups from each other and by their destruction and dissolution latex will be produced.

147. Araceae novae micronesicae. Sumihiko HATUSIMA. (J. Jap. B. 15, 1934, 1 text-fig.).

Spathiphyllum micronesicum and *Rhaphidophora Kanehirae* are new species and described with figures. Three other species are enumerated with their respective habitat and distribution.

148. Contributiones ad dendrologiam Nipponiae Australis (V). (With Japanese résumé). Sumihiko HATUSIMA. (J. Jap. B. 15, 1939, 134-139, 2 text-figs.).

Rhyncotechum formosanum, *Adinandra Zen-Tasiroi*, *Eurya Kanehirae*, *E. minutissima* and *E. oblongifolia* are new species and provided with their respective diagnoses. Besides some other species are cited.

149. Studies on *Lenzites gibbosa* (PERS.) HEMMI n. comb. causing wood-rot of deciduous trees. (Japanese with English résumé). Takewo HEMMI and Jûkichi IKEYA. (A.PP.S.J. **9**, 1939, 1–15, 2 pls. and 2 tables).

The fungi causing wood rot hitherto known by the names *Lenzites tenuis* LÉV., *L. Earlei* MURRILL, *Boletus sinuosus* SOW., *Daedalea gibbosa* PERS. and *Trametes gibbosa* (PERS.) FR. are nothing but the synonyms of one and the same species of fungus, which the authors call *Lenzites gibbosa* (PERS.) HEMMI n. comb. The shape of the tube-orifice is excessively variable, not only on different individuals, but also even on different parts of one and the same individual—lamellate, as in *Lenzites*, labyrinthiform as in *Daedalea*, tubular as in *Trametes*.

The fungus is characterized by causing the white spongy rot of wood, and on the basis of the results of culture experiments according to BAVENDAM's method, it is recognized to belong to FALCK's "Korrosionsipilze." The authors have executed the culture of this fungus on several artificial nutrient media, concerning which they have determined the temperature relation as follows: the mycelial growth takes place most vigorously between 28–32°, and the optimum lies somewhat higher than 28°.

150. On *Botrytis* rots of stored onions. (Japanese with English résumé). Takewo HEMMI and Shizuko NIWA. (A.PP.S.J. **8**, 1939, 309–327, 1 pl. and 1 table).

This article contains the results of investigations on the mycelial neck rot caused by *Botrytis byssoidea* WALKER, the small sclerotial neck caused by *B. squamosa* WALKER and a new disease caused by *B.* sp.

The most efficacious method of artificial infection of *B. byssoidea* is to inoculate conidia into needle wounds of bulbs and keep the whole so as not to let it dessicate excessively. The invasion through unwounded scales of bulbs was also observed, though to a slight degree. The infection will occur between 3-32°, most rapidly at 10-24°. The decay of bulbs goes on much more slowly in the case of invasion by *B. squamosa* than in that of invasion by *B. Allii*, *B.* sp., etc.

The infection by *B.*sp. above cited takes place most vigorously at ±24° and its pathogenicity is so intense that the fungus is able to penetrate even into the unwounded bulb scales.

In all species of *Botrytis* cited above, the spore dimension as well as the cultural characters differ from each other.

It was further shown that all the strains of *Botrytis cinerae* PERS. isolated from decaying fruits of strawberries and Satsuma oranges are able to infect the succulent scales of onion also.

151. The relation of CO_2-assimilation activity to the age of the evergreen leaves. (Japanese with English résumé). Keinosuke HIRAMATU. (E.R. **5**, 1939, 25–32, 3 text-figs. and 4 tables).

Experiments were made with intact leaves of two species of evergreen *Ilex* trees, viz. *Sugeroki* subsp. *brevipedunculata* and *leucoclada* in order to compare the assimilation activity of those of different age.

In the first of the two species above indicated, though the general course of assimilative activity is similar in both one-year- and two-years-aged leaves, the latter are more active than the former, the quantity of CO_2 absorbed (per one day and

100 cm²) being 1.00:1.68 on the average. Since, however, under natural condition, two-years-aged leaves are generally shaded by one-year-aged ones of new shoots, which are situated above the former, the reverse may take place.

In *Ilex leucoclada* two-years-aged leaves are also most actively assimilating, one-year and three-years-aged ones being less active, thus, for instance, one year: two years: three years=1.00:1.53:0.87. Further, in respect to one-year-aged leaves those which are developed earlier tend to be more active in assimilation than others, for instance, 1.00:1.25 on the average. The quantity of chlorophyll contained in one-year-, two-years- and three-years-aged leaves are, so to say, positively correlated with their respective assimilation activities, thus one: two: three=1.00:1.34:0.98 (in fresh weight).

152. Japanese species of *Gymnosporangium*. (Japanese). Naohide HIRATSUKA. (B.Z. **7**, 1939, 748–749).

The following species of *Gymnosporangium* of Japan are enumerated: *G. Haraeanum* SYD., *G. formosanum* HIRATSUKA fil. et HASHIOKA, *G. nipponicum* YAMADA, *G. Juniperi* LINK, *G. corniforme* SAWADA, *G. japonicum* SYD., *G. Amelanchieries* FISCH., *G. clavariaeforme* (JACQ.) DE CANDOLLE, *G. Miyabei* YAMADA et I. MIYAKE, *G. Yamadae* MIYABE, *G. hemisphaericum* HARA.

An analytical key for the identification of the species above cited, founded on the uredo- and teleutospore-generation is given. For each species synonyms, hosts, and distribution are cited.

153. Nuntia ad floram japonicae XXXVII–XXXVIII. (With Japanese résumé). Masazi HONDA. (B.M.T. **53**, 1939, 49–59, 2 figs., 90–91, 49–101, 144–145).

The following new species are described: *Orthodon Mayebaranum*, *Poa Iwayae*, *Agrostis Osakai*, *Miscanthus ogiformis*.

Besides a number of new varieties, forms and combinations are contained in this article.

154. Contributions to the bryological flora of Eastern Asia (VI). (With Japanese résumé). Yoshiwo HORIKAWA. (J. Jap. B. **15**, 1939, 359–368, 6 text-figs.).

Of 8 species contained in this paper the two following are new and described: *Pycnotejeunea subalpina* and *Polytrichum yezoense*.

155. Fourth notes on *Elaphomyces* in Japan. Sanshi IMAI. (P.I.A. **15**, 1939, 146–147).

Elaphomyces fragilisporus IMAI sp. nov. and *E. variegatus* VITT. (from Hokkaidô) with their respective diagnoses are contained in this article.

156. Studies in *Ganoderma* of Nippon. (Japanese with English résumé). Rokuya IMAZEKI. (B.T.S.M. No. **1**, 1939, 29–52, 15 text-figs.)

The author's *Ganoderma* excludes the section *Amauroderma* PATOUILLARD on account of the difference in the characteristics of spores. The author does not agree with MURRILL, who has restricted the name *Ganoderma* to the group of *G. lucidus* with laccate pileus. The genus is divided into three subgenera, viz. *Euganoderma*, *Elfvingia* and *Trachyderma*. The species belonging to each subspecies are as follows:

Euganoderma neojaponicum IMAZ., *subumbroculm* IMAZ., *Curtisii* (BERK.) MURR., *Tsugae* MURR., *sessile* MURR., *tropicum* (JUNGH.) BRES., *fornicatum* (FR.) PAT. and *boninense* PAT.

Elfvingia applanatum (PERS.) PAT. and its allies.

Trachyderma Tsunodae (YAS.) TROTT.

157. Studies on the Japanese aquatic fungi I. On *Apodactyella* sp. nov. with revision of the Leptomitaceae. Hiroharu INDOH. (Sc. Rpts., T.BR.D., Nos. **64 66**, 43-50, 1 pl.).

The fungus belonging to the Saprolegniaceae, which is apparently identical to that called *Apodactyla completa* by HUMPHREY in 1893 was isolated again from the soil by the author, and he has succeeded in getting the almost pure culture of his fungus on agar plate (hemp seed agar) and water. Like HUMPHREY, the author could not observe the zoosporangia in his culture, so that it was impossible to decide, whether his fungus will belong to *Leptomitus* or *Apodachlya*, for these two genera are distinguished by the form of their zoosporangia, which are either cylindrical or pyriform respectively. Oogonia and antheridia were developed. Each of the former forms 2-12 (usually 4-7) oospheres, and below it 1-3 slender antheridial branches are developed, each of which is terminated by an antheridium. The latter attaches itself to the oogonium and produces 4-10 antheridial cells. Each of the latter produces the fertilization tube, which penetrates within the oogonium wall and reaches the oosphere to fertilize it. Thick-walled oospores, which are characterized by having no periplasmic membrane, as seen in *Rhipidium* or *Sapromyces* are formed in consequence.

Though his fungus is allied to *Apodachlya*, on account of the want of zoosporangia it is not decided, whether it will belong to *Leptomitus* or *Apodachlya*. He proposes to establish a new genus *Apodactyella* with one species *A. completa* (HUMPHREY) INDOH sp. nov.

Further, the author proposes a new classification of the family Leptomitaceae and divided it into two groups, chiefly distinguished by the presence or absence of periplasmic membrane, viz. the *Apodactyla*-group with no periplasmic membrane in the oospores (*Apodactyla, Apodactyella, Leptomitus*) and the *Rhipidium*-group with periplasmic membrane in the oospores (*Rhipidium, Sapromyces, Araiospora*).

158. Comparison of the ability of cellulose decomposition by cultu-e strains of the rice blast fungus *Piricularia Oryzae* BR. et CAV. (Japanese with English résumé). Yoshitaka INOUE. (A.P.S.J. **9**, 1939, 33-40).

Some time ago the fact that the rice blast fungus is able to decompose cellulose added to the culture media was observed by some authors. The present author has performed the culture of several different strains of the fungus under question on the synthetic agar plate containing colloidal cellulose (made of pieces of filter paper treated with H_2SO_4). He measured the ability of cellulose-decomposition of various strains, basing on the width of clear and semi-transparent zones which appear among the colonies of each strain. It was seen that the width is widely different in different strains.

159. Fungi of the Bonin Islands III. Seiya ITO and Sanshi IMAI. (R.S.N.H.S. **14**, 1939, 9-20).

Among 29 species enumerated in this article the following are new species and provided with their respective diagnoses: *Calvatia boninensis, Lepiota boninensis, Lepiota boninensis, L. inconspicua, Tricholema boninensis, Clitocybe vittatipes, C. castaneofloccosa, Pleurotus Cyatheae, Hygrophorus bicolor, H. parvicoccineus, H. macrosporus, H. miniatostriatus, Collybia alplitophylla, C. matris, Mycena Wrightii, M. viscalba, Marasmius lateritiosulcata, M. tripsicaerotula, M. excontripes, Dictyotris boninensis.*

160. Schwefelbakterien in den Sukanoyu-Thermen bei Hakkôdagebirge. (Japanisch). Tadao JIMBO. (E.R. **5**, 1939, 66–68).

In dem Sukanoyu-Thermen bei Hakkôdagebirge gibt es hauptsächlich die Thermalquellen, welche sich in ihrem Azidität voneinander unterscheiden lassen. Im Bade nahe dem Gasthaus beträgt die Temperatur des Thermalwassers 42°, pH = 5 und die Menge von H_2S = 33 mg/L. Am Orte, wo die Temperatur solches Wassers um 30° erniedrigt ist, kann man gar keine Bakterien oder Blaualgen erkennen, und erst am Orte, wo Temperatur = 22°, pH = ± 5.0, H_2S-Menge = 30 mg/L kann man die blassvioletfarbigen Kolonien von *Thiospirillium* finden.

In der Thermalquelle im botanischen Gartens mit pH=3–4 findet man bloss ausser einer Lebermoosart, *Haplozia thermarum* die Diatomeen und Blaualgen, und gar keine Bakterien. Hinzuzufügen ist, dass früher EMOTO in der Thermalquelle nahe dem Gasthause die Bakterien, welche gegen den starken Säuregrad widerstandsfähig sind, isoliert hatte, nämlich *Thiobacillus thermitanus*, *T. crenatus* und *T. umbonatus*.

161. Ueber eine aus dem menschlichen Nagel kultivierte *Endodermophyton*-Art. (M. japan. Zfg.). Toyoakira KAMBAYASHI. (B.M.T. **53**, 1939, 163–168, 1 Textfig. gruppe).

Bisher sind in Japan die *Endodermophyton*-Arten bloss in Formosa und Mikronesien aufgefunden worden, und zwar als die Ursache von Tinea imbricata. Der Verf. hat aber neuerdings im eigentlichen Japan eine Art dieser Gattung entdeckt bei einem Fall von Omichomycosis, teilweise mit Paraonychia, welche aus den Nägeln der beiderseitigen Daumen, Zeige- und Mittelfinger bei einer 26-jährigen Badediener entwickelt ist. Auf Grund der kulturellen und morphologischen Eigenschaften hat der Verf. diese Art als *Endodermophyton tropicale* CASTELLANI et CHALMERS bestimmen können.

162. Studies on the epiphyllous Hepaticae and then attached plants in Sikoku, Japan. (Japanese with English résdme). Minoru KAMIMURA. (J. Jap. B. **15**, 1939, 62–83, 5 text-figs.).

Epiphyllous Hepaticae in Sikoku, Southern Japan, are found on ferns (41 species), trees and shrubs (33) and herbs (21) of Angiosperms. The following are enumerated: *Metzgeria* (2 species), *Plagiochila* (1), *Chiloscyphus* (2), *Bazzania* (2), *Radula* (4), *Madotheca* (2), *Frullania* (3), *Jubule* (1), *Lopholejeunea* (1), *Drepanolejeunea* (1), *Enosmolejeunea* (1), *Pycnolejeunea* (2), *Lejeunea* (1), *Cheilolejeunea* (1), *Leptocolea* (10), *Physocolea* (8).

163. Observations on *Eckloniopsis radicosa* (KJELLM.) OKAMURA. (Japanese). Tiyoiti KANDA. (B.M.T. **53**, 1939, 271–275, 6 text-figs.).

Eckloniopsis radicosa, first ranked among *Laminaria* by KJELLMAN, then under *Ecklonia* by OKAMURA, and finally under *Eckloniopsis* gen. nov. by the latter author, is a laminariaceous alga, which is living chiefly in southern sea of Japan, where the warm ocean current is passing. In this alga, in which the seasonal variation is quite distinct, the zoospores are formed at the beginning of autumn, and young sporophytes appear between the end of one year and the spring of the next. They grow vigorously between the spring and summer, and produce the zoosporangia at the end of summer. After the liberation of zoospores, the alga begins to decay basipetally, until finally at the beginning of autumn the whole disappears.

Since the growth of young sporophyte causes the gradual change of its aspect, the comparison of young and old sporophyte shows that they are very dissimilar

externally. Thus, in the former the stem which is short and straight, produces some rhizoids at its base; the frond is thin and shows a few shallow folds, and its both margins at the transition part to the stem, are almost spherical. In old sporophyte the stem is longer and curved and produces new rhizoids abundantly, which will cover those preexisting; the upper part of the frond dies off and disappears, and the remaining part becomes very much thickened and possesses many deep folds; its both margins at the boundary of the stem elongate and become cordate, till they roll up themselves around the basal part of the stem with rhizoids.

The zoosporangia are developed on the surface of the frond and stem, and even on that of rhizoids. The latter fact has hitherto never been observed in other Laminariaceae.

164. On the culture of zoospores of some Laminariaceae living in warm sea. (Japanese). Tiyoiti KANDA. (Rpt. from "Reports of the HATTORI's Hôkô Society" **8, 1938, 319–345, 3 pls. and 23 text-figs.).**

Eisenia bicyclis (KJELLM.) SETCH., *Ecklonia cava* KJELLM., *E. stolonifer* OKAM., *Eckloniopsis radicosa* (KJELLM.) OKAM., *Undaria Peterseniana* (KJELLM.) OKAM., all of which belong to the Laminariaceae, are living chiefly in southern sea of Japan, where the warm ocean current is passing. The author has performed the artificial culture of their zoospores and traced the development of the gametophytes and young sporophytes. The article which contains the description of the results of his observations is richly illustrated.

The mode of development of all species above mentioned agrees to each other on the whole, but there are naturally certain peculiarities characterizing each. It is of course impossible here to describe the mode of development of each in all its details, and below some few data of importance only will be referred to.

The form of zoospores and spermatozoids is typical of brown algae, for they are pear-shaped and biflagellate; no eye-spot has ever been observed in any of the species studied by the author, which is a remarkable contrast to the zoospores of some Californian Laminariaceae, belonging to *Eisenia* and *Pterigophora*, where the presence of eye-spot has been ascertained.

The culture of zoospores gives rise after few days to the male and female gametophytes, which are, as usual, composed of few cells, even frequently of one or two cells only. Each oogonium contains one oosphere, which, when mature, protrudes out of the oogonial cavity, without however leaving it wholly. Fertilization ensues then, and the resulting oospores grow in length and undergo several successive cell-divisions to form young sporophytes, whereupon the lowest cell of the latter elongates to fill up the oogonial cavity which is now empty, and remains without undergoing any cell-division till the end (*Eisenia*, *Ecklonia*, *Eckloniopsis*). In *Undaria*, the behaviour is somewhat different: the cell of the gametophyte in the neighbourhood of the oogonium penetrates into the empty oogonial cavity, grows sometimes so conspicuously that it protrudes out of it by breaking through its wall.

In *Eisenia bicyclis* and *Ecklonia cava*, of which the young sporophytes are so similar to one another that they are hardly distinguishable, the differentiation of the frond and stem begins to take place, when they attain few mm. In young sporophytes of *Eckloniopsis radicosa* the cell-division in the direction of the long axis begins to occur already, when they are yet but 4-celled, and since such cell-division is repeated several times, the frond becomes fan-shaped. In *Eisenia bicyclis* and *Ecklonia cava* the rhizoids do not take their origin in the lowest cell of the sporophyte, but in the second or even in the third up the lowest one.

165. An enumeration of plants collected in the territory of New Guinea, Australian Manda e III. (With Japanese résumé). Ryôzô KANEHIRA and Sumihiko HATUSIMA. (B.M.T. **53**, 1939, 8-16, 5 text-figs.-groups, 44).

Among a number of plants enumerated in this article the following new species with its diagnosis is contained: *Conthovia novo-britannica.*

166. New and noteworthy trees from Micronesia XXX-XXXII. (With Japanese, résumé). Ryôzô KANEHIRA and Sumihiko HATUSIMA. (B.M.T. **53**, 1939, 151-157, 181, 189-193, 229, 7 text-figs.).

The following new species are described: *Cleidion sessile, Rinorea palaucica, Barringtonia longipedicellata, Terminalia crassipes, Cordia micronesica.*

Several other species (comb. nov., nom. nov. etc.) are contained in this article.

167. On the intracellular bodies associated with the dwarf diseases of mulberry trees. (Japanese with English résumé). Itirô KAWAI. (A.P.S.J. **9**, 1939, 17-21, 4 text-figs.).

The author could observe the X-bodies in the interior of epidermal and mesophyll cells in affected leaves of mulberry trees suffering from the dwarf disease. In respect to the bodies just mentioned, a single one lies in general in one cell near its nucleus, though rarely two are present. It is oval, round or irregular in outline, 4.5-13.5 μ long, and 4.5-6.0 μ wide. The body is apparently homogeneous in structure, contains many vacuoles, and is surrounded by a membrane. The author thinks on the basis of the above observations that we have in the dwarf disease of mulberry tree to deal with a virus disease.

168. Erzeugung polyploider Individuen durch Colchicin bei *Celosia cristata.* (Japanisch m. deutsch. Zfg.). Hitoshi KIHARA und En KISHIMOTO. (A.H. **13**, 1938, 2623-2628, 7 Textfig.).

Die Keimlinge von *Celosia cristata*, welche in einer gewissen Lösung von Colchicin sich aus den Samen entwickelt haben, sind ausgepflanzt und zytologisch untersucht. Die Tetraploiden sind reichlich entstanden, besonders in der 0,02% Lösung. Ausserdem haben die Verff. die Diploiden und die aus diploiden und tetraploiden Zellen zusammengestzten Mosaikpflanzen bekommen. Die Diploiden enthalten 18 bivalente Chromosomen, während die Tetraploiden eine variable Anzahl von tetravalenten Chromosomen aufweisen. Die in der obigen Weise erzeugten Tetraploiden unterscheiden sich morphologisch usw. nicht besonders von den gewöhnlichen Autotetraploiden. Die Missbildungen sind auch vertreten und vollkommen unfruchtbar.

169. Symbolae iteologicae VII. Arika KIMURA. (Sc. Rpts., T.I.U. **14**, 1939, 191-194).

The genus *Balsamiflua* GRIFFITH is divided into two sections, Euphraticae and Pruinosae. The first contains the following species, *B. euphratica, diversifolia, Litwiniwiana, Ariana, Mauritanica, Bonnetiana, ilicifolia, illicitana* and some fossil ones. The second contains *B. pruinosa, glaucicomans* and one fossil species.

170. Sur le groupe d'*Hypericum pseudopetiolatum* (I)-(II). (En japonais avec les diagnoses latines). Yojiro KIMURA. (J. Jap. B. **15**, 1939, 292-301, 378-386, 11 figures intercalées dans le texte).

On donne tout d'abord une clef analytique pour la détermination des espèces et variétés contenues dans le groupe d'*Hypericum pseudopetiolatum*.. Ensuite on énumère les formes suivantes: *Hypericum pseudopetiolatum* var. *typicum* Y. KIMURA nom. nov. contenant 4 forma, *H.p.* var. *taihezanense* Y. KIMURA stat. nov., *H.p.* var. *kiusianum* Y. KIMURA comb. nov., *H.p.* var. *Muraianum* Y. KIMURA comb. nov. contenant 3 forma, *H. yakusimense* KOIZDUMI contenant 2 forma, *H. Kinashianum* var. *typicum* Y. KIMURA nom. nov., *H.K.* var. *umbrosum*, *H.K.* var. *longistylum*, *H. penthrodes* contenant 2 forma, *H. oliganthum* var. *typicum* Y. KIMURA, *H. nigrum* Y. KIMURA var. nov.

Les caractères morphologiques des formes appartenant à ce group, les affinités systématiques entre ses espèces et variétés, et enfin leur distribution géographique terminent le présent article.

171. Ueber den Einfluss des Wuchsstoffes auf die Protoplasmaströmung bei den Myxomyceten-Plasmodien. (M. japan. Zfg.). Saburo KINOSHITA. (B.M.T. **53**, 1939, 175–180, 1 Textfig.).

Als das Untersuchungsmaterial wurden die Plasmodien von *Didymium nigripes* var. *xanthopus* benutzt.

Es ist wohl bekannt, dass die Protoplasmaströmung bei den Myxomyceten-Plasmodien aus den rhythmisch wechselnden Vorwärts- und Rückwärtsbewegungen besteht. Im allgemeinen dauert die Vorwärtsströmung etwas länger als die Rückwärtsströmung (z.B. im Mittel 41.7 bzw. 35.2 Sek., Strömungsverhältnis= $\frac{\text{Vorwärtströmungsdauer}}{\text{Rückwärtsströmungdauer}} = 118\%$). Wenn aber die Plasmodien mit einer geeigneten Lösung von Heteroauxin (39-625 γ/L) behandelt wird, wird die Zeitdauer der Vorwärtsströmung verlängert und dieselbe der Rückwärtsströmung verkürzt (z.B. im Mittel 42.5 bzw. 31.3 Sek., somit Strömungsverhältnis = 135%).

Für das Vorwärtskriechen der Plasmodien ist das Strömungsverhältnis von Bedeutung. In den Fällen, wo, wie oben angezeigt, dies Verhältnis durch die Einwirkung einer Heteroauxinlösung vergrössert wird, wird das Vorwärtskriechen der Plasmodien befördert, während wenn die gebrauchte Heteroauxinlösung zu konzentriert ist (z.B. 5 mg/L und mehr) dies Verhältnis vermindert wird. Die KCN-Lösung, die das Potential des Frontteils der Plasmodien zu erniedrigen bekannt ist, verkleinert im der Konzentration 1/10-1/1000 Mol. das oben erwähnte Verhältnis.

Auf Grunde aller vom Verf. beobachteten Tatsache schliesst er, dass bei den Myxomyceten-Plasmodien die Potentialveränderung, die Wuchssttoffwirkung sowie die Protoplasmaströmung zueinander eng verknüpft sind.

172. Ueber die Potentialverteilung und den Wuchsstofftransport bei den Keimpflanzen von *Helianthus annuum* und *Pisum sativum*. (Japanisch m. deutsch. Zfg.) Saburo KINOSHITA. (B.M.T. **53**, 1939, 83–89, 1 Textfig.).

Beim Hypokotyl von *Helianthus annuus* verhält sich der stark wachsende Spitzenteil elektropositiv gegen den nichtwachsenden Basalteil, und die Ansatzstelle der Kotyledonen zeigt einen vielfachen Potentialwert als die Spitze. Beim Abtrennen von Kotyledonen verhält sich die Basis gegen die Spitze elektropositiv und bei Zugabe des Wuchsstoffes wird die normale Potentialverteilung wieder hergestellt. Beim Epikotyl von *Pisum sativum* verhält sich normalerweise die Basis gegen die Spitze elektropositiv. Die Entfernung der Kotyledonen erniedrigt den Potentialwert der Basis, welche aber durch Zugabe des Wuchsstoffes wieder erhöht werden kann.

Inbezug auf den Einfluss des künstlich zugeführten elektrischen Stromes auf die Potentialverteilung ist es nachgewiesen worden, dass wenn die Kathode an der Spitze und die Anode an der Basis gelegt wird, der Potentialwert der Spitze erhöht wird, während wenn die Kathode an der Basis und die Anode an der Spitze gelegt wird, die umgekehrte Erscheinung eintritt (d.h. der Potentialwert der Spitze wird erniedrigt).

Weiterhin, wenn man dem geotropisch gereizten Hypokotyl den elektrischen Strom in der Richtung Basis→Spitze zuführen wird, wird die geotropische Reaktion vergrössert und im Falle der Richtung Spitze→Basis wird diese Reaktion erniedrigt.

173. Ueber die Wirkung des Wuchsstoffes auf die Wurzelbildung. (Japanisch m. deutsch. Zfg.). Saburo KINOSHITA und Zyunjiro KASAHARA. (B.M.T. **53**, 1939, 138–143, 3 Textfig.).

Inbezug auf die Beziehung des Wuchsstoffes auf die Wurzelbildung ist es einerseits angenommen, dass die fördernde Wirkung des Wuchsstoffes ohne die Mitbeteilung eines zweiten Faktors nicht möglich sei, während anderseits die Notwendigkeit solches zweiten Faktors unnötig zu sein behauptet wird.

Die Experimente der Verff. an *Roripa, Nasturtium aquaticum, Chrysanthemum*-arten, *Thea* haben ihnen gezeigt, dass bei *Roripa* die Zusammenwirkung von Heteroauxin und Vitamin B für die einwandfreie Förderung der Wurzelbildung erforderlich ist. Dank des Gebranches dieser zwei Substanzen kann man die Wurzelbildung an den Teilen veranlassen, wobei natürlich sie nicht stattfinden kann. Inbezug auf die *Chrysanthemum*-Stecklinge, wirkt das Heteroauxin im positiven Sinne, nicht aber das Vitamin B. Bei *Thea*, welche bekanntlich schwer bewurzelt werden kann, veranlasst das Vitamin B eine deutliche Wurzelbildung.

Der Endschluss der Verff. steht wie folgt: für die Wurzelbildung ist neben dem Wuchsstoffe der sweite Faktor notwendig, welcher durch das Vitamin B ersetzt werden kann. Die Pflanzen, welche leicht bewurzeln können, scheinen von vornherein mit dem zweiten Faktor reichlich versehen zu sein.

174. Ueber den Entwicklungszyklus einer Violacein bildenden Bakterie. Teidirô KISITANI und Tadasi SUMIYOSI. (J.S.H.U. **3**, 1939, 153–164, 2 Taf. und 2 Textfig.).

Eine Bakterie, welche durch ihre violaceinbildende Eigenschaft ausgezeichnet ist, wurde aus den Kiemen der Venusmuschel (*Meretrix meretrix*) isoliert. Die Verff. haben die Reinkultur davon bekommen und die Entwicklung verfolgt. Diese Bakterie ist *Pseudomonas janthina* MIG. (*Bacterium janthinum* ZOPF) und *P. pseudojanthina* MIG. (*Bacillus violaceus* GR. u. FRANKLAND) ähnlich, doch ist sie in einigen Beziehungen verschieden.

Die vegetativen Zellen dieser Bakterienart sind stäbchenförmig und mit einem unipolaren Geissel versehen. Auf dem Nährboden bildet sie 2-3 Tage nach der Impfung ein Häutchen auf der Oberfläche der Nährlösung. Die mikroskopische Untersuchung eines kleinen Stückes dieses Häutchens lässt erkennen, dass jeder desselnen eine Zellgruppe darstellt, welche aus zahlreichen radialangeordneten Bakterienstäbchen zusammengesetzt ist und wobei keine Geissel nachweisen lässt. Die Verff. haben dabei verschiedene Uebergangsstadien von vegetativen Zellen zur Häutchenbildung klar beobachten können.

Die weitere Kultur des obenerwähnten Häutchens, welches die Verff. durch den Namen der "ersten Zellgruppe" bezeichnet haben, führt zur Bildung der "sekundären Zellgruppe." Die letztere ist im ganzen kugelig und begrabt sich in Schleim, worin die Zellen unregelmässig geschlossen und untereinander keine plasmatische Verbindung erkennen lassen.

Aus der ersten Zellgruppe werden bisweilen die Gonidien entstehen, indem unter gewisser Bedingung die Zellen des Häutchens voneinder sich austrennen und im Nährboden untergehen, womit jede Zelle zu einem Gonidangium sich verwandelt, welches je 3-5 Gonidien enthält. Jede Gonidie entwickelt sich zu einer vegetativen Zelle, wobei für die Keimung derselben keine Ruheperiode vorhanden zu sein scheint.

Ausser den obenerwähnten ersten und zweiten Zellgruppe wird bisweilen das sog. Symplasma ausgebildet, welches einen amorphen Zustand der Bakterienzellen darstellt, in welchem die vegetativen Zellen sich zuerst zueinander gruppieren und auflösen, um eine plasmatische Masse auszubilden.

175. Expositiones plantarum novarum Orientali-Asiaticarum 4. (Japanese with Latin diagnoses). Siro KITAMURA. (A.PT.G. **8**, 1934, 75–90, 2 text-figs.).

The following are new species and described: *Saussurea kanzanensis, Chrysanthemum okiense,* und *Senecillis ovato-oblonga.*

An analytical key for the identification of the species of *Senecillis* (60 in all) is given.

176. On the genus *Tremella* and its allies from Japan. (Fungorum ordinis Tremellales studia monographica II). Yosio KOBAYASI. (Sc. Rpts. T.B.D. Nos. **64–68**, 1–26, 6 pls. and 15 text-figs.).

According to the author the family Tremellaceae contains three independent genera, viz. *Nakaiomyces* gen. nov., *Naematelia* FR. and *Tremella* (DILL.) FR.

Nakaiomyces gen. nov. contains three following species, viz. *N. nipponicus* sp. nov., *N. selutosus* (HENN.) comb. nov. (Africa) und *N. luteo-rubescens* (HOLTERM.) comb. nov. (Java).

Naematelia FR., which is frequently included in the genus *Tremella,* contains one Japanese species, viz. *N. encephala* FR.

Tremella is divided into 2 subgenera. Subgenus I. *Sparassoides* subg. nov. contains one Japanese species, *T. samoensis;* subgenus II *Tremellela* subgenus nova, divided into 3 sections contains the following species found in Japan, viz. *T. viscosa,* (SCHUM.) BERK., *T. incrustans* sp. nov., *T. candida* (non PERS.) YASUDA, *T. mycetophiloides* sp. nov., *T. pulvinalis* sp. nov., *T. neofibulifera* sp. nov., *T. caulicola* sp. nov., *T. isabellina* LLOYD, *T. flammea* sp. nov., *T. mesentrica* (RETZ.) FR., *T. iduensis* sp. nov., *T. roseotincta* LLOYD, *T. foliacea* (PERS.) FR., *T. fimbriata* (PERS.) FR., *T. fuciformis* BERK.

177. Fungi austro-japonicae et micronesiae III. (With Japanese résumé). Yosio KOBAYASI. (B.M.T. **5**, 1939, 158–162, 7 text-figs., 182–184).

Die following new species are described among others: *Bulgaria frondosa, Orbilia limpida, Megalonectria pseudotrichia.*

178. Contributiones ad cognitionem florae Asiae Orientalis. Gen'iti KOIDZUMI. (A.PT.G. **8**, 1939, 50–61, 108–117).

This article is the continuation of the papers recently published. The following are the new species contained in this article and described: *Heracleum aksimontanum; Sasa admirabilis, bellatula, consentanea, hibaconuca, tikusialpina, trichodon, melinacris, mirabunda, vagans; Epilobium Sohayakiense, kitadakense; Rubus geibiensis, hatanashiensis, shigaensis, suzukaensis, Tawadanus, Heriositakai, Ohwianus, Okamotoanus; Salix aridaensis, ultima, takasagoalpina, Okamotoana, kinokuniensis; Arundinaria iyasakaensis, Tsurumatiana, Yamadoriana; Pleioblastus Ohwiensis.*

179. On *Palaeodictyon* and fossil *Hydrodictyon*. (With Japanese résumé). Kwan KORIBA and Shigeru MIKI. (Jubilee publication in commemoration of Prof. H. YABE 60th birth day, 1939, 56–68, 2 photogr. pls.).

The fossil genus *Palaeodictyon*, notwithstanding its vegetable nature, has hitherto been very often interpreted as to be of animal origin (sponge, polyp, coral or *Bryozoa*), and even to be of inorganic origin. The authors have found a number of specimens of this genus in the sandstone beds of early Tertiary in some localities of Prov. Kii (Southern Japan). Among three specimens collected by them there was the already known species, *P. majus* MENEGH., while the two others are new species called *P. tenue* and *P. robustum* respectively by the authors. Besides a new fossil species *Hydrotyction tertiarum* was found in the same sandstone bed. The authors' studies have established definitely the algal nature of *Palaeodictyon*, for the reasons which are stated below. Firstly, the fossils found by the authors are various in size, which indicates successive stages of their development; secondly, in the case where the periphery of the coenobium is not damaged, the fossil is hexagonal in its outline which indicates that the daughter coenobium is formed within the meshes of the mother network extracellulary (it is to be remarked that in *Hydrodictyon*, where, as actually known, the daughter coenobium is formed intracellulary, it is sac-shaped), thirdly, detached networks show distinctly cellular cord.

Palaeodictyon should, according to the authors, have been living in brackish water lagoon and estuaries, and the fact that the coenobia are often broken in their periphery may have been caused by the turbulence of water, where they were living.

The authors think their opinion to be probable that *Palaeodictyon* has been derived from *Pediastrum*, and *Hydrodictyon* from *Paleodictyon*.

180. Germination power and buoyancy of the seeds in fresh and sea water. (Japanese). Taku KOSHIMIZU. (B.Z. **7**, 1929, 547–551).

It is well known that both fresh and sea water are the important factors in respect to the distribution of plants. The author has made certain experiments concerning 33 plant species in order to study their power of germination and buoyancy in fresh and sea water. He proceeded as follows: Seeds were placed in an ERLENMEYER's flask of 200 cc capacity containing fresh or sea water (20–50 in each flask), and the whole was stored in the greenhouse 10-35°C during 30 days. The behaviour of seeds treated in such a way is described in detail in a table. From the latter the following facts may be deduced: some seeds can germinate much more abundantly in sea than in fresh water (e.g. *Thlaspi arvense*), others behave quite contrary (e.g. *Achyranthes japonica* etc.), while still others behave in the same way in both kinds of water (e.g. *Plantago major*, etc.); some seeds may germinate simply in fresh water (*Diervilla grandiflora*, etc.). It may be added that there were seeds of some plants that did not germinate at all during the author's experiments.

In respect to the buoyancy of seeds, some will swim on sea water, but will sink under fresh water (e.g. *Kyllingia brevifolia*), while others may swim on both kinds of water (*Diervilla grandiflora*). Some others sink down even in sea water (e.g. *Geranium nepalense*), and some others sink down at first, but swim afterwards (e.g. *Firmiana platanifolia*, *Patrinia villosa*).

181. Genus *Nitraria* (Fam. Zygophyllaceae). I. V. KOZLOFF. (J. Jap. B. **15**, 1939, 123–131, 2 text-figs.).

The plants called *Nitraria Schoberi* are found growing generally in the garden of the Museum Hoang Hopai Ho. These plants which are preserved in the herbarium of the same Museum are called by the same scientific name. The author could however

distinguish two species, viz. *N. Schoberi* L. and *N. sphaerocarpa* MAX. They are described in detail with figures. The bibliography concerning these plants is given.

182. On the life-history of *Porphyra tenera* KJELLMAN. Hiroshi KUNIEDA. (J.C.A., T.I.U. **14**, 1939, 377–405, 10 pls. and 1 text-figs.-group). (The same paper written in Japanese in B.Z. **7**, 1939, 691–699, 851–860, 1041–1048, 10 text-figs.-groups).

Though the life-history of *Porphyra tenera* KJELLM. has hitherto been the object of investigation by several algologists, the author thinks that their data are not quite correct in several respects. He gives in this paper the results of his new investigations which have been started in 1933.

Though *Porphyra tenera* KJELLM. has hitherto been held for one single species, the author could distinguish several different types, among which the round and the long type are most prominent. On the Bay of Tôkyô it is customary to immerse twigs of bamboos or trees in sea water towards September-October. The sporelings composed of a single row of cells begin to appear on these twigs in the middle of October, and each of them will grow to a more or less long filament composed of several cells. In the sporelings of round type, the longitudinal cell-division occurs in this filament already after the formation of only 5-7 transverse walls, while in the long type it will not take place until after more than 10 (usually 15-23) transverse walls have been formed, so that the result is the formation of roundish and long frond respectively. The mode of further development of both types is quite different. The frond of round type will produce at first an enormous number of thin-walled monospores, which will germinate soon after their appearance and finally give rise to fronds, on which the sexual cells will appear. The frond of long type which is developed from the sporeling, will, on the contrary, never produce the monospores, but the sexual cells will appear directly on these fronds themselves, which will bear carpospores in future. As to the mode of distribution of sexual cells on the fronds the author could establish the fact that we have here not to deal with the simple monoecism, as was hitherto generally considered, but with a special case, "androdioecism", i.e. some fronds are strictly male and produce antheridia exclusively, while some others are monoecious and produce carpospores as well as antheridia. Antheridia in both male and monoecious fronds are quite identical, and each of them consists of 16 cells in surface view, so that if it is assumed that it is composed of four layers, 64 spermatia should be present. Fertilization takes place in winter, and its mode seems to be somewhat different from what is generally observed in the fertilization of red algae. It is likely, that it proceeds as follows: spermatia liberated into sea water attach themselves to the trichogyne by means of their amoeboid motion, and there they are totally engulfed into the trichogyne; after the retreatment of the latter, the spermatia are dragged into the main part of the carpogonia. As the result of fertilization the thick-walled carpospores are formed. They remain in the carpogonia, and grow up gradually in size to reach finally the stage with four cells in surface view and eight in all. They do not germinate soon after their formation, which is diametrically opposite to what the early investigators have announced: the carpospores pass the summer as such and first in autumn they will germinate and develop into the sporelings, which are found in autumn, sticking to the twigs immersed in sea water (cf. above).

Though *Porpyra tenera* has been hitherto held for one single species, the author is of opinion, that it should be appropriately separated into several different species. It should be divided even into two genera, viz. *Porphyra* (long type) and *Metaporphyra* (round type), each containing several distinct species.

183. Chromosomen bei einigen Laubmoosen. (Japanisch). Masahide KURITA. (B.Z 7, 1939, 385–388, 3 Textfig. gruppe).

Rhizogonium spiniforme und *Dozyanum* sind monözisch bzw. diözisch. Bei der ersten Art sind 6 Chromosomen in der Metaphaseplatte zu sehen, von denen der grösste V-förmig ist und zwei Einschnürungen zeigt; 4 Chromosomen sind an einem Ende zugespitzt. Bei der zweiten, wobei die ♂ und ♀ Pflanzen karyologisch zueinander völlig übereinstimmen, ist das grösste V-förmige Chromosom viel kleiner als das entsprechende von *spiniforme*, und weiter sind 4 Chromosomen, welche denselben von *spiniforme* entsprechen, nicht immer zugespitzt.

Der Verf. hat die Chromosomenzahl der folgenden Arten bestimmt: *Diphyscium fulvifolium* n=9, *Mnium microphyllum* und *M. trichomanes* n=6, *Pogonatum capillare* und *P. curvatum* n=7.

184. The hydration and dehydration phenomena in mitosis. II. A consideration of the spiral stage with the results of experiments and observation. Yoshinari KUWADA, Namio SINKE and Zyun NAKAZAWA. (Cyt. 9, 1939, 393–406, 5 text-figs.).

SINKE's dehydration-hydration experiments on resting nuclei show that when a deydrated nucleus is hydrated, the internal structure becomes very much resembling the structure of the nucleus at the so-called spiral stage. NAKAZAWA has followed the process of mitosis in living material from the very beginning to the spiral stage, and found that a reduction in size of the nucleus occurs just before the spiral stage, which is immediately followed by an increase. On the basis of these results of experiments and observation, it is discussed that the spiral stage is of natural occurrence and is connected with the dehydration-hydration phenomena taking place in the cell mitotically activated. Y. K.

185. Plankton in sea near the Southern Archipelago. (Japanese). Hisatosi MARUKAWA. (S.S.I. 2, 1939, (1)–(5), 2 tables).

During four successive days (December 18-21, 1938), the author has performed the vertical collection of the plankton from the surface to 50 m depth of the sea near the Southern Archipelago, the KITAHARA's quantitative collection net being used throughout. The position of collection was between Palau and New Guinea, 130° 30′ E.

The first collection was done at 7°00′ N, and every ½ hour the position of collection was changed 50′ southwards successively, i.e. 7°00′ N, 6°30′ N, 6°00′ N, 5°30′ N, etc. to 3°30′ N.

The second collecting expedition was also done.

An extensive table exhibiting the names of plankton organisms collected by the author, the quantity of precipitation, transparency, and water colour at each spot of collection are shown. The table indicates that the quantity of plankton organisms was small at the first, second, third and fourth spot of collection, being 0.2, 0.2, 0.6, 0.1 ccm respectively, increased gradually from the fifth and was greatest at the 14th (2.8 ccm). It was often stated that the sea near the Southern Archipelago is poor in plankton, but this will not be always true in view of the results of the present expediion of the author. As regards the names of plankton organisms collected by the author cf. the original.

Further, another table is given, showing the results of vertical collection expedition done in April, May and September, 1915 as well as July, August and September 1927. In the first of the two expeditions just indicated the position was 1° 00′ N and the precipitation quantity 1.6 ccm, while in the second they were 0° 30′ and 3.6 ccm (maximum) respectively.

186. Miscellaneous notes on the flora of Eastern Asia VI, VII, VIII. (Japanese with Latin diagnoses). Genkei MASAMUNE. (T.N.H.S.F. **28**, 1938, 431–437, 29, 26–30, 56–64).

The following new species and varieties are described among others: *Euphrasia tatakensis, Alangium taiwanianum, Chrysanthemum horaimontanum, Rhododendron sikayotantaizanensis, Bladhia pseudoquinquegona, Ophiopogon hainanensis, Galium kiirunense, Marsdenia iriomotensis, M. tinctoria* var. *tomentosa, Alpinia Takaminei, Tovara ryukywensis, Epilobium formosanum, Ranunculus iriomotensis, Rubia akane* NAKAI var. *erecta, Conandron ramondioides* var. *taiwanensis.*

187. Continental elements in the floral districts of Formosa. (Japanese). Genkei MASAMUNE. (Rpt. from "Scientific Papers for the commemoration of the 30th Anniversary of the Museum of the Formosan Government-General, 1939, 127–144, 3 text-figs.).

The present flora of Formosa is composed of two elements, viz. continental and oceanic. The first elements, which amount almost to 1/3 of the whole flora, are those which have been originally derived from the Eastern Asiatic Continent, especially China. As the instances of these elements are mentioned the following plants, their present distribution in various parts of Formosa and East Asiatic Continent, especially China being indicated: *Chionanthus retusa, Abelia chinensis* var. *ionandra, Liquidambar formosana, Amentotaxus argotaenia, Taiwania cryptomerioides, Keteleeria Davidiana, Pinus Amandi, P. Massoniana, Juniperus formosana, J. squamata, Pseudotsuga Wilsoniana, T. chinensis* var. *formosana, Rosa sericea* var. *morrisonensis, Ulmus parviflora, Quercus variabilis, Ficus foveolata, Cerasus cerasioides* var. *campanulatus, Picrasma quassioides, Sapium discolor, Meliosma rigida, Idesia polycarpa, Paulownia Fortunei, P. Kawakamii, Potentilla leuconota, Monenses uniflora, Amesium septentrionalis, Polystichum Dutchii, Eriocaulon truncata.*

Few oceanic elements or so-called Malay-Pacific ones are enumerated, viz. *Diospyros maritima, Sideroxylon ferrugineum, Hernandia ovigera, H. littoralis* are plants growing in sea shore, and it is probable that they have been derived from the floating fruits coming from other localities.

188. *Dryopteris barbigera* OK., new to the alpine flora of Taiwan. (Japanese with English résumé). Genkei MASAMUNE and Tokio SUZUKI. (J. Japan. B. **15**, 1939, 57-62, 2 text-figs.).

Dryopteris barbigera OK. has been newly discovered at a mountain in Formosa 3,500 m. above sea level. It has been hitherto known from Himalaya only.

189. Ueber den Einfluss der Erhitzung während der Aufbewahrung auf die Keimung des Tabaksamens. Syûsô MASUMOTO. (J.S.H.U. **3,** 1939, 165-189, 1 Taf. und 28 Tab.).

Für die Experimente wurden die Samen einer durch den japanischen Namen Ôdaruma bekannten Tabaksorte benutzt, welche experimentell sich als obligates Lichtkeimers erwiesen hat. Das Erhitzen der Samen auf die Temperatur 30-37° führt zur Beförderung ihrer Keimung, und der Erfolg steigert sich mit der zunehmenden Behandlungsdauer. Die Erhitzung kann teilweise das Lichtbedürfnis der Keimung ersetzen, aber nicht ganz, indem bei völliger Dunkelheit der Vorgang nicht eintreten kann, trotz der Hitzebehandlung der Samen.

Den Erhitzungserfolog kann man einiger Zeit nach der Behandlungen noch spüren, aber er wird allmählich schwächer, um schliesslich völlig zu verschwinden, obgleich durch das nochmalige Erhitzen der Erfolg wieder auftreten wird.

Es ist weiter zu bemerken, dass die Erhitzung auf hohe Temperatur (z.B. 70°) für die hochgereiften Samen schädlich ist, aber bezüglich der wenig nachgereiften eher die Keimung befördert.

Der Grund, warum das Erhitzen des Samens solchen keimungsbefördernden Einfluss ausübt, ist noch nicht ganz klar.

190. Two strains of *Petunia* mosaics. Takashi MATSUMOTO. (T.N.H.S.F. **29**, 1939, 1–12, 2 text-figs.).

The author's investigation refers to two strains of virus, A and B, which cause the mosaic disease in *Petunia*. The symptoms caused by them are very similar to each other, but in other respects they are quite distinct. Firstly, the infectivity of the strain A is remarkably lower than that of the other, being less than 20% at the concentration of 1/50 and 0 at that of 1/100. It is considerably lowered by passing through a BERKEFELD filter. Secondly, though both strains are able to infect besides *Petunia* some species of *Nicotiana*, they are sharply distinguished in respect to *Nicotiana Sanderae*, inasmuch as the strain B only produces necrotic lesions. Thirdly, the strain B is very similar serologically to ordinary tobacco mosaics or even may be identical to it, but the strain A differs fundamentally from the strain B, inasmuch as the former is unable to produce antisera and does not react in the presence of antisera prepared from the strain B and others. Fourthly, the leaf tissue infected by strain B contains the vacuolate bodies, and plate-like crystals characteristic in ordinary tobacco mosaics, but the strain A lacks invariably such cell-inclusions.

191. Ueber den Einfluss von Kation und CO_2 von Bicarbonaten auf die Assimilation bei *Helodea densa*. (Japanisch m. deutsch. Zfg.). Sinzi MATUSIMA. (B.M.T. **53**, 1939, 221–228, 6 Textfig).

Die Zusammenfassung des Verfs. steht wie folgt.

Die Assimilationsintensität von *Helodea densa* wurde mit dem WARBURGschen Manometer oder durch die Blasenzählmethode bestimmt. Die Kationen, die in den als Mediumflüssigkeiten verwendeten Bicarbonatlösungen enthalten sind, üben die schädliche Wirkung auf die Assimilation aus, und diese verstärkt sich mitsamt der Ansteigung von C_{OH}. Die Reihenfolge der Schädlichkeit ist $NH_4^{\cdot} \geq Na^{\cdot} > K^{\cdot}$. Solche nicht wünschenswerte Wirkung der Kationen lässt sich bei der Verminderung von C_{OH} durch die Erhöhung des CO_2-Drucks oder beim Zusatz $C^{\cdot\cdot}$ als Antagonist schwächen oder beseitigen. Uebermässiger CO_2-Druck wirkt natürlich ebenfalls giftig darauf.

Der Grenzwert des CO_2-Drucks, unter dem diese Schädigung beginnt, ist verschieden nach der Lichtintensität. Bei grosser Lichtstärke ist die verhältnismässig schwache Vermehrung des CO_2-Drucks schon genug, um die Schädigung hervorzurufen, und diese tritt auffälling in der K- oder N-Bicarbonatlösung als in der NH_4-Bicarbonatlösung auf. Im allgemeinen lässt sich eine Neigung erkennen, dass in alkalischer Lösung die schädliche Wirkung des Kations und in saurer Lösung diejenige des Anions vorwiegt, und solche Wirkung wird durch starkes Licht merklicher gemacht.

Die WARBURGschen Carbonat-Bicarbonatgemische, die oft als die Assimilationsflüssigkeit verwendet werden, reagieren ziemlich stark alkalisch und wenigstens bei *Helodea densa* wirken sie mit ihren Kationen ungünstig auf die Assimilationstätigkeit. Dies ist besonders beim lang dauernden Versuche der Fall. Zum Zwecke des Assimilationsversuchs lässt sich die verdünnten $KHCO_3$-Lösung als die bessere Medium-

flüssigkeit empfehlen, deren C_{OH} durch den Zusatz von CO_2 in kleinen Mengen möglichst in der Nähe der Neutralität bewahrt wird.

192. Chromosomenstudien an Orchidazeen II. Somatische Chromosomenzahlen einiger Orchideen. Tadamasa MIDUNO. (Cyt. **9**, 1939, 447–451, 22 Textfiguren).

Bei den Orchideen sind in eigentümlicher Weise die Chromosomen sehr dicht aneinander gedrängt, sodass die Bestimmung der Chromosomenzahl keineswegs leicht auszuführen ist. Doch hat der Verf. die 2n-Zahl von 20 Arten Orchideen ausgerechnet, welche zu den Gattungen *Bletia*, *Eleorchis*, *Habenaria*, *Pecteilis*, *Liparis*, *Spiranthes* und *Orchis* gehören. Die 2n-Zahl beträgt 28, 30, 32, 36, 40, 42 und 62. Die Trabanten sind bisweilen vorhanden. Auch in einigen Fällen wurde die Myxoploidie nachgewiesen, z.B. in der Wurzel von *Pecteilis radiata*, wo 2n teilweise 32, teilweise 32, teilweise 64 ist.

193. On the remains of water plants in Asia. (Japanese). Shigeru MIKI. (J.L. **8**, 1938, 410–416, 1 text-fig. group).

As announced in the adjoining table, where the names of fossil water plants hitherto recognized in Japan are enumerated, there are 15 genera of aquatic plants, of which 13 genera incl. 28 species are fresh water ones. According to the author, in the genus *Trapa* 80% of its species have disappeared since the Pliocene era. Such an enormous extinction is due to the fact that the ripe seeds of plants belonging to this genus which have sunken under water are hardly able to float over it, and that the considerable change of water level has taken place in recent time.

That *Euryale ferox* has phylogenetically been derived from *Nuphar*, and not from *Nymphaea*, may be inferred from the fact, that firstly, since *Nuphar* has appeared very early in Eastern Asia, we meet with its remains abundantly, and secondly, the transition form between the two, for instance, as *Nuphar akashiensis*, is found.

The remains of *Nelumbo* in its original habitat are generally leaf-petioles and rhizomes, so that the old *Nelumbo* fruits abundantly present in Pulantien (OHGA) are not perhaps the remains, but may be the accumulation of those drifted from other localities.

194. On the remains of *Pinus trifolia* n. sp. in the Upper Tertiary from Central Honsyu in Japan. (With Japanese résumé). Shigeru MIKI. (B.M.T. **53**, 1939, 241–246+1, 1 pl. and 3 text-figs.).

The author has discovered from the Upper Tertiary deposit in a locality in Central Honsyu (Nippon of the European authors) the fossil remains of *Pinus* species, which he calls *Pinus trifolia* n. sp. This species is to be ranked among the section Taeda, subgenus Diploxylon. It is intimately related to *P. Coulteri* DON. and *P. Sabiniana* DOUGL., which are both trifoliate, but the author's species differs from both by smaller cones and seeds and sometimes by being tetrafoliate.

The subgenus Diploxylon containing 3 sections, and 13 species are distributed at present in N. America (9 species), Yunnan to Himalaya (3 species), Canary Islands (1 species). The discovery of one trifoliate species in Japan just above stated will indicate that at the beginning of the Tertiary period the genus *Diploxylon* has taken its origin in the polar region and gradually spread southwards, and that by the extinction of the species between them the present state of distribution has been brought about.

Pinites Fujiii YASUI should be transformed to *P. Fujiii* (YASUI) n. comb. on account of the similarity of its cone to that of *Pinus* and also as it was living at the same time with *P. trifolia* and at the same locality.

195. Mendelian inheritance of the resistance against the virus disease in wheat strains. (Japanese). Miduho MIYAKE. (J.J.G. **14**, 1939, 239-242, 2 tables).

In the author's experiments 7 kinds of soil were used, which on account of early experiments are known to give rise to yellow and green mosaic disease of wheat respectively. The F_1 plants derived from the cross between susceptible and resistant strains were cultivated in some of the above stated soils, and it was observed that all of them are quite healthy, except some few which were attacked by the disease. The dominance of resistant to susceptible strains was thus proven. In F_2 the segregation into resistant and susceptible was clearly shown, and it has taken place in the simple monogenic way.

196. Ueber die Verschiedenheit der Blütenfarbe von Hanashobu (*Iris ensata* THUNB.) in ihren Assoziationen. Manabu MIYOSHI. (P.I.A. **15**, 1939, 65-66).

Inbezug auf die Blütenfarbe der assoziationsbildenden Hanashobu (*Iris ensata*) gibt es drei Sorten, nämlich, purpurrot, violett und gemischt. Wenn man diese drei Sippen verschiedener Farbenart inbezug auf ihre Verbreitung in verschiedenen Gegenden Japans betrachtet, so wird man sehen, dass die Assoziationen mit purpurroten Sippen auf dem nördlichen Teil, diejenigen mit violetten oder gemischten Sippen an dem südlichen Teil aufzufinden sind. Als *Iris ensata* eigentlich zur borealen Flora gehört, scheint die purpurrote die ursprüngliche Blütenfarbe und die violette, die sekundäre zu sein.

197. Ueber des Vorkommen einer Trauertanne auf dem Berge Tarebora in Centraljapan. Manabu MIYOSHI. (P.I.A. **15**, 1939, 67).

Das Vorkommen der Trauertanne oder Hängetanne in Europa ist seit langem bekannt. Der Verf. hat neuerdings zum ersten Mal in Japan eine wildwachsende Trauertanne aufgefunden, und zwar in Tareboragebirge in Gihu-Präfektur (Centraljapan). Sie wird *Abies firma* S. et Z. var. *pendula* MIYOSHI genannt.

198. Studies on the gametophyte of ferns (IX). Further observations on the prothallium of eudryopteroid ferns.-Ibid (X). (Japanese). Siduo MOMOSE. (J. Jap. B. **15**, 1939, 280-292, 369-378, altogether 17 text-figs.).

The prothallium of 7 species of *Dryopteris* belonging to the subgenus Eudryopteroid are described in detail. Basing on the characters of prothallia the following classification was proposed:

I. Eudryopteris sect. Lophodium—*D. austriaca*
II. Eudryopteris sect. Filix-mas i. Crassirhizoma-type—*D. crassirhizoma*, *D. polylepis*; ii. Monticola-type—*D. monticola*; iii. Lacera-type—*D. lacera*, *D.* uniformis.
III. Tokyoensis-type—*D. tokyoensis*; *D. cycadina* var. *melanolepis*
IV. Sparsa-type—*D. sparsa*
V. Eudryopteris sect. Pycnopteris—*D. Sieboldii*
VI. Eudryopteris sect. Erythro-variae i. Erythro-variae-type—*D. varia*, *D. sordidipes*, *D. Taquetii*, *D. erythrosora*, *D. cystolepidota*, *D. Yabei* var. *Ogawai*; ii. Formosana-type—*D. formosana*.

199. Tolerance of plants to the aluminium toxicity. (Japanese with English résumé). Ryûya MORI. (E.R. **5**, 1939, 41-54, 10 tables).

The tolerance of plants to the aluminium toxicity was studied by putting the cuttings of certain plants (about 100 subalpine and mountainous species) in a solution containing aluminium sulphate ($Al_2(SO_4)_3.H_2O$) in various concentrations

(0.05-0.5%) for a certain time duration. The toxicity was found to be different in various plant families, so, for instance, Pinaceae, Aquifoliaceae, Primulaceae are tolerant, while Betulaceae, Ranunculaceae and Oenotheraceae are susceptible. The tolerance seems not to be generally related to the life-form, though woody plants are in general more susceptible than herbaceous ones. Among woody plants shade plants are more susceptible than light plants, while in herbs just the reverse is observed. The xerophytes are much tolerant, thus the plants with thick or needle-shaped leaves are tolerant. The author thinks that the tolerance of plants towards aluminium is not only the organization's-, but also the adaptative character.

200. Culture of weeds XII. The effect of citrate ions. (Japanese with English résumé). Keizi MORITA. (E.R. **5**, 1939, 33–44, 4 tables).

The experiments of USPENSKY on *Azotobacter* and some green algae have ascertained that the citrate ions serve as the buffer against Fe, and these results have been then confirmed by HOPKINS as well as PRINGSHEIM. Similar experiments were performed by the author concerning *Alopeculus fulvus*. To the water culture of the latter plant $FeCO_3.6H_2O$ and $Na_3C_6H_3O_7.5\frac{1}{2}H_2O$ (sodium citrate) in various concentrations was added. The results are briefly summarized by the author as follows:

The citrate ion relieves the injurious effect of $F^{\cdots}$ iron in high concentration, and accelerates its promoting action in low concentration. The same is true in respect to $K^{\cdot}$, $Ca^{\cdot\cdot}$, $NH^{\cdot}$, and PO'''. By the application of $NH^{\cdot}$-, PO'''- and $K^{\cdot}$- ion the growth of the top is more favoured than that of the root, this contrast being especially prominent as the concentration is raised. No such effect is visible concerning $Ca^{\cdot\cdot}$- and $Mg^{\cdot\cdot}$-ions. Formerly the antagonism and synergism between the Fe:: and Mn::- ions were observed, and a formula was given indicating the amount of these two ions for getting the maximum dry weight of test plants. In the present experiment quite the same relation was found to exist between the $Fe^{\cdot\cdot}$- and the citrate-ions. The favourable effects of soil extract on the growth of plants are to be ascribed to the buffer materials which effect not only the $Fe^{\cdots}$ ion, but also other ions necessary for the plant nutrition.

201. Cytogenetical studies on sugar-cane-sorghum hybrids. (A preliminary note). (Japanese). A. MORIYA. (J.J.G. **14**, 1939, 268 269).

Recently the artificial hybridization between sugar-cane and sorghum was done in order to get the early maturing strain of sorghum-cane. This was successful in India. In Formosa the same hybridization was performed, though not yet completely successful. In this short article the author has announced the chromosome relation in such hybrids (sugar-cane ♀ × sorghum ♂). In this hybridization normal, dwarf and median types were got. The chromosome number in the first and third type is as follows (dwarf type not yet examined): the somatic chromosome number of normal type is 118, which corresponds nearly to the sum of double half chromosome number in sugar-cane ($2n = 117$) and half that in sorghum ($2n = 10$). In the median type the 2n number is ± 64, which corresponds to the sum of half chromosome number in sugar-cane and sorghum.

202. Association of chromosomes in *Chelidonium*. (Japanese with English résumé). S. NAGAO and S. SAKAI. (J.J.G. **15**, 1939, 23–28, 25 text-figs.).

The chromosome number in root-tips of *Chelidonium majus* is 10, of which 4 are inserted on the spindle fibers at their median part (V-chromosome), and the

remaining 6 at their ends (J-chromosome). In PMC, though the chromosomes are paired in the prophase of the first meiotic division, they are otherwise linked at their respective ends to form one or more chromosome rings. The end chromosome of such rings are connected to the nucleolus. The chromosomes thus linked together are arranged in the equatorial plate to appear zigzag-shaped in side view. The disjunction of the chromosomes takes place in general regularly, because the contiguous ones wander to the opposite poles. Sometimes, however, the numerical distribution of chromosomes is abnormal.

203. Notulae ad plantas Asiae Orientalis (VII). (Japanese and Latin). Takenoshin NAKAI. (J. Jap. B. **15**, 1939, 1–14).

Bidens of Manchuria and Corea with an analytical key for the identification of sections and species (=7).

Textoria with an analytical key for the identification of its species (=10, of which many are new combinations).

204. *Castanopsis, Pasania* and their allies in the Japanese Empire. (I)–(II). (Chiefly in Japanese). Takenoshin NAKAI. (J. Jap. B. **15**, 1939, 186-204, 657-277).

First of all, the literature (149) is given. Among *Cyclobalanopsis* the following are new: *C. actaeformis, C. Kanehirai, C. kiusiana. Castanopsis* (6), *Synaedrys* (3), *Cyclibalanus* (2), *Pasania* (15).

205. Natural varieties of *Galium boreale* and *Galium verum* found in East Asia. (With Japanese résumé). Takenoshin NAKAI. (J. Jap. B. **15**, 1939, 339-353).

Galium boreale L. var *koreanum* NAKAI var. nov.
Galium boreale L. var *ciliatum* NAKAI var. nov.
Galium boreale L. var. *leiocarpum* NAKAI var. nov.
Galium boreale L. var *lanceolatum* NAKAI var. nov.
Galium verum L. var. *asiaticum* NAKAI var. nov.
Galium verum L. var. *japonicum* NAKAI var. nov..
Galium verum L. var. *nikkoense* NAKAI var. nov.
Galium verum L. var. *album* NAKAI var. nov.

206. Zur Physiologie der Zellteilung in *Closterium*-Arten. Hirosi NAKAMURA und Tadamasa MIDUNO. (Cyt. **10**, 1939, 399-504, 4 Tabellen).

Die Experimente wurden an zwei Arten ausgeführt, nämlich *Closterium Ehrenbergii* und *C. Dianae*.. Die Teilungsrate wird nach der Formel $\frac{x - x_0}{x_0}$ bestimmt, wobei x die Zahl der am Versuchsende vorhandenen Zellen, x_0 diejenige am Versuchsanfang bezeichnet. Der Endschluss der Experimente war, dass die Zellteilung durch Licht und Sauerstoff gehemmt, und durch die Zuckerzugabe beschleunigt wird. Es wurde festigestellt, dass die Zellteilung von beiden *Closterium*arten üppig im Bezirk von roten Strahlen (660—710 $\mu\mu$) und nur spärlich in demjenigen von blauen oder grünen vor sich geht. Die Hemmung im Sauerstoff kann man aus den Experimentresultaten sehen, z.B. an *C. Ehrenbergii*, wobei die Teilungsrate im Sauerstoff 2,5-3,0 und im Wasserstoff 4,0-5,1 beträgt. Es ist wohl bekannt, dass die Zellteilung von *Closterium* hauptsächlich in der Nacht stattfindet und die Verff. waren zur Annahme geneigt, dass das Vorhandensein des bei der Kohlensäure-Assimilation ausgeschiedenen Sauerstoffes die Zellteilung beim Tag hemmen mag Es ist merkwürdig, dass die Teilung üppig geht, wenn dem Medium das Cystein zugefügt wird

(z.B. 96% beschleunigt in *Cl. Ehrenbergii*), und dabei ist es bemerkenswswert, dass die anaeroben Bakterien bei Zugabe von SH-Körper aerob gedeihen können. Die Zucker-Zugabe beschleunigt die Zellteilung bedeutend, z.B. 83,8% Beschleunigung bei Glukosezugabe. Inbezug auf den Einfluss verschiedener Gifte ist es z.B. erwähnenswert, dass Monojodessigsäure sowie Natriumfluorid die Zellteilung beträchtlich hemmen (100% Hemmung).

207. Effects of fast neutrons upon plants I. Abnormalities in *Fagopyrum* and *Cannabis*. (Japanese). Yoshio NISHINA and Yosito SINOTÔ. (B.I.P.C.R. **18**, 1939, 721–734, 23 text-figs.).

Dry seeds of *Fagopyrum esculentum* and germinating ones of *Cannabis sativa* were exposed to the irradiation of fast neutrons emanating from the cyclotron, and effects of such experiments upon two plant species were studied.

In *Fagopyrum* the rate of germination was 20% smaller than in the control, whilst in *Cannabis* no such wide difference between treated seeds and the control was observed. In *Fagopyrum* the growth of young roots was somewhat less intense than in the control, whilst in *Cannabis* no appreciable difference between treated and control seeds was detected in this respect In young and adult plants a certain retardation of growth was observable in both species of plants.

In *Fagopyrum* which was treated various anomalies have appeared, thus, for instance, variegation of leaves to various degrees, fasciation of stems, dwarf plants. The flowering is always somewhat retarded than in the control. Flowers, whose perianth-leaves are more numerous than in the control, perianth-leaves with irregular wavy outline, or imperfectly developed are sometimes met with. In cytological respect there were also several anomalies: irregular meiotic behaviour of pollen mother-cells, tetrads as well as pollen grains of smaller size than in the control. The chromosome number undergoes no change, though the mixoploid with octoploid shoots seem to have appeared.

In *Cannabis* similar anomalies were also seen.

208. Polyploid plants induced by the colchicine method. (Japanese with English réesmé). Ichizo NISHIYAMA. (B.Z. **6**, 1933, 1404-1406, 4 text-figs.).

Concerning *Petunia violacea* some axillary buds in one shoot were treated with 8 drops of 0.8% colchicine solution. Compared with the control these axillary buds were retarded somewhat in their development. The study of the meiosis of PMC has revealed the fat that while in the control the normal 2n(=14) was seen, the chromosome number in the treated objects was 28 or 27, i.e. either tetraploid or hypotetraploid. The tetraploid plants are characterized by larger pollen grains and stomata than in the diploid. The growth of leaves and stems were somewhat checked.

209. Chromosome number of a Chinese *Lycoris*. (Japanese with English résumé) Ichizo NISHIYAMA. (J.J.G. **10**, 1939, 82–85, 1 text-fig.).

A Chinese *Lycoris* of unknown specific name has reached the author's hands. It is externally very similar to *Lycoris radiata*, though it is clearly distinguishable from the latter by being perfectly fertile instead of being sterile. In karyological respect it resembles *L. sanguinea*, containing 22 diploid chromosomes, which are inserted on the spindle fibers almost terminally. The characteristic shape of the bivalents at the first metaphase of PMC are shown in figures.

210. Hybrids between *Solanum nigrum* and its allied species. (Japanese). Yonehati NISIMURA. (J.J.G. **15**, 1939, 145-147, 12 text-figs.).

The following species of *Solanum* were used for making species hybrids, viz. *Solanum nigrum* L. (n=36), *S. macrocarpa* L. (n=36), *S. miniatus* BERNHARDI (n=12), var. *villosissimum* DUNAL (n=24), *S. Dillenii* SCHULTES (n=12), and *S. alatum*, MOENCH (n=12). The hybrids between the species containing the same chromosome number is easily to be done, and the resulting hybrids are quite fertile. The hybridization n=24×n=12 is not difficult, but in the case when the former is taken as the female, the germination of hybrid seeds is bad; the hybridization n=36×n=12 is difficult to be done. In several cases of these species hybrids the bivalents and no polyvalents are observed in I. metaphase, while in other cases besides the bivalents some univalents are present, which go to the poles as such. The presence of polyvalents in the latter cases is not sure.

On the basis of his experiments as well as cytological observations the author comes to the conclusion that the species of *Solanum* taken in his experiments will contain the genomes which are identical or at least very similar to each other.

211. Studies on the Japanese mosses of the order Isobryales and Hookeriales IV. Akira NOGUCHI. (J.S., H.U. **3**, 1939, 211-224, 2 pls. and 6 text-figs.).

The following species are described in detail with illustrations: *Ortotrichum anomalum* HEDW., *Ulota reptans* MITT., *U. eurystoma* NOGUCHI sp. nov., *Trachypodopsis crispatula* (HOOK.) FLEISCH, var. *longifolia* NOGUCHI var. nov., *Calyptothecium japonicum* THER., *C. cuspidatum* NOGUCHI comb. nov., var. *laxifolium* NOGUCHI var. nov., *Pinnatella taiwanensis* NOGUCHI sp. nov., *Thamnium coreanum* CARD., *Drichomitriopsis crenulata* OKAM.

212. Studies on the polyploidy in *Nicotiana* induced by the treatment with colchicine. I. General observations on the autotetraploid of *Nicotiana rustica* and *N. Tabacum*. Yakiti NOGUTI, Kikuo OKUMA and Hideo OKA. (Jap.J.B. **10**, 1939, 309-219, 4 text-figs.).

213. Two new species of Cyperaceae from the Caroline Islands. (With Japanese résumé). Jisaburo OHWI. (A.PT.G. **8**, 1939, 67-68).

Carex Kanehirae and *Fimbristylis Hatusimae* are described as new species.

214. Report on the flora of the "Sugâ" or the salt-river in Okinawa Island, Ryûkyû. (Japanese). Yoshikazu OKADA. (J. Jap. B. **15**, 1939, 48-53, 1 text-fig.).

In the Okinawa Island, Ryûkyû, the author has discovered three rivers of salt-water. They do not communicate with the sea. Such remarkable rivers are locally called Sugâ. The author has studied the vegetation of sugâ. In one of them the following 6 species were found, viz. *Terpesinoe triquetra*, (Diatom), *Ulva reticulata*, *Caloglossa ogasawaraensis* (red alga), *Catanella opuntia*, *Bostrychia Andoi* (red alga), *Ruppia rostellata*. Of these 6 species all are marine or brackisch water plants, except one which may live also in fresh water. It is very remarkable that the sea weeds are living in river.

215. Report on some Japanese fresh water algae. (IV). (Japanese). Yoshikazu OKADA. (J. Jap. B. **15**, 1939, 164-166, 7 text-figs.).

Vaucheria polysperma HASSALL. and *V. pachyderma* WALZ are described in Japanese and Latin with figures.

216. Beobachtungen über japanische Moosflora. XVIII–XIX. (M. japan. Zfg.). Kyuichi SAKURAI. (B.M.T. **53**, 1939, 59–67, 12 Textfig., 246-251, 6 Textfig., 246-251, 6 Textfig., 280–281).

Die folgenden neuen Arten sind ausführlich beschrieben: *Fissdens Iwasakii, F. niigatensis, F. schismoides, Dicranum perstrictum, D. Mayebarae, Weissia cucullifolia, Triquetrella recurvifolia, Trachyphyllum Kanedae, Heterophyllium brevifolium, Ptychomitrium kiusiwense.*

Ausserdem sind zahlreiche andere Arten hervorgehoben.

217. Vitamin B_1-Synthese der Mikroorganismen I. Ueber die Schimmelpilze. Kyuya SAKURAI. (J.S.H.U. **3**, 1939, 191–200, 2 Tabellen).

Für den Versuch wurden 4 verschiedene Stämme von *Aspergillus oryzae* verwendet. Die Grundlösung für ihre Kultur war wie folgt, wozu verschiedene Substanzen hinzugefügt wurden: saccharose 50g, H_2HPO_4 5g, $MgSO_4$ 2.5g, $FeCl_2$ Spur, H_2O 1000 ccm.

Es ist vor allem zu bemerken, dass alle 4 Stämme in der Bildung von Vitamin-B_1 untereinander keinen besonders merkwürdigen quantitativen Unterschied gezeigt haben. Wenn man als Nährquelle zur Grundlösung NH_4NO_3 hinzufügt, ist die Bildung von B_1 sehr gering, aber wenn Nukleinsäure benutzt wird, wird die B_1-Bildung verhältnismässig gross sein. Wenn die obengenannten zwei Substanzen zugleich hinzugefügt werden, so ist die Ausbeute von B_1 gering, als wenn man NH_4NO_3 allein hinzugefügt hätte, was zur ausschliesslichen Benutzung der letzteren durch den Pilz zu verdanken sein dürfte. Nächst der Nukleinsäure sind Harnsäure und Histidin als gute N-Quelle zu betrachten. Selbst in dem Kulturboden, wo Cl nicht chemisch nachweisbar ist, entsteht B_1, was auf die Bedeutung von Chlor für den Vorgang in der Natur hinweisen mag.

Weiter wurde es beobachtet, dass die Versuchspilze die Fähigkeit haben, die durch Alkali gestörte B_1 in ursprünglicher Form zu rekonstruieren. Bei der Verwendung von Thioharnstoff als N-Quelle ist die Ausbeute von B_1 sehr gering, was zur giftigen Wirkung desselben zurückzuführen ist.

Was die Temperatur für die Bildung von B_1 anbetrifft, wurde es festgestellt, dass die niedere vorzuziehen ist als die höhere, z.B. bei gleichartigem Nährboden und unter sonst gleichen äusseren Umständen ist die Ausbeute am B_1 bei 24-25° > bei 28-30° > bei 31-32° > bei 35-37°, wie experimentell nachgewiesen.

218. Trivial notes on the Japanese plants (V). Y. SATAKE. (J. Jap. B. **15**, 1939, 140–145, 2 text-figs.).

Eriocaulon filamentosum SATAKE sp. nov., *E. suishaense* HAYATA var. *okinawaense* SATAKE var. nov., *E. Nakasimanum* SATAKE sp. nov., *E. trisectum* SATAKE sp. nov. are described in Japanese and Latin.

219. On the root development of paddy rice plant. (Japanese with English résumé). Kenkichi SATO. (J.A.E.S.K. **9**, 1937, 257–378, 6 pls. and 7 text-figs.).—**Influence of manuring on the growth of root of paddy rice plant.** (Ibid. **9**, 1938, 475–492, 3 pls. and 4 text-figs.).

By means of a special method of experiment, which is not described in this abstract, the author has traced the root development of certain strains of paddy rice plant from the beginning till the harvest time. The results are briefly as follows.

The most considerable elongation of the growing root occurs, when the plant is in its seed-bed or in early tillering stage (first period). The number of roots

increases gradually from the early period of growth towards the tillering and shooting period, reaches the maximum at the heading time, and decreases gradually till the harvest time. The dry weight of the root increases gradually from the early growth time towards the heading time, but since the increase of weight of the top is much greater than that of the root, the ratio $\frac{\text{weight of root}}{\text{"} \quad \text{" top}}$ gradually decreases towards the shooting or heading time. In respect to the number of roots in different levels of soil, it was found that at the depth of 10-20 cm the soil is occupied by 50-60% of the total root number, at 20-30 cm by 30%, and at 30-40 cm by 12-13%, and at 50 cm by 1-2% only, so that we may say that the root system of the rice plant is living rather shallowly than other cereal plants.

In the second paper above cited the influence of manuring with nitrogen, phosphate and potash on the growth as well as dry weight of roots is described. Thus, for instance, the application of nitrogen leads to the increase of the number and dry weight of roots, but to the decrease of their length. The application of phosphates and potash promotes the root formation and leads to their deep penetration into soil.

220. Ueber das Wachstum junger Holzpflanzen bei Wasserkultur im Zusammenhang mit der Stickstoffquelle und der Wasserstoffionenkonzentration. (Japanisch). Yoshio SATO und Sennosuke YAMAGUCHI. (R.B.C.E.F., C.A., H.I.U. **11**, 1939, 45 S., 8 Taf. u. 34 Tab.).

Bisher wurde die ernährungphysiologischen Studien betreffend die Beziehung zwischen dem Pflanzenwachstum und der Stickstoffquelle fast ausschliesslich an den landschaftlichen Pflanzen ausgeführt. Die Verff. haben nun solche Studien über den jungen Holzpflanzen ausgedehnt und in der vorliegenden Abhandlung ihre Versuchsresultate veröffentlicht. Die Untersuchungsmaterialien waren die jungen Pflanzen von *Abies sachalinensis*, *Picea ajanensis* und *Glehnii*, *Larix Kaempferi*, *Populus Sieboldi* usw.

Die Experimente wurden durch die Wasserkultur ausgeführt, wobei die Gefässe von Porzellan oder Hartglas benutzt wurde. Als der Nährboden diente die KNOPsche Lösung, wozu das Natriumphosphat zugefügt wurde.

Die Versuchsresultate werden wie folgt zusammengefasst. Der Grad von pH für die beste Entwicklung ist nach den Arten verschieden, so z.B. bei den *Populus*-Arten liegt der optimale Grad von pH an ziemlich stark sauerer Seite (*Populus Sieboldii* 3,8–5,5, *P. pyramidalis* 3,5–4,5), während in den Nadelhölzern, wie *Abies sachalinensis*, *Picea ajanensis* und *Glehnii* es eher an der mittelmässig sauren Seite liegt (4,0–6,0).

Im Falle, wobei $Ca(NO_3)_2$ als N-Quelle diente, wurde die sauere Reaktion der Nährlösung erniedrigt, während wenn $(NH_4)_2SO_4$ oder $NaNO_3$ als die gleiche Quelle benutzt wurde, erhöhte sich die sauere Reaktion, wenngleich auch der Grad solches Wechsels je nach dem Pflanzenalter verschieden ist. $(NH_4)_2SO_4$ und $NaNO_3$ oder $Ca(N_3O)_2$ wurden für die jungen Keimlinge von *Abies sachalinensis* usw. als die gute bzw. schlechte N-Quelle nachgewiesen, wenn dies Verhältnis für die zweijährigen Keimlinge keineswegs zutreffen wird.

Die Tatsache, dass die Entwicklung der Sämlinge nach den Arten von benutzten Salzen verschieden ist, dürfte nicht nur auf den Unterschied der Salzen in Qualität und Quantität, sondern auch auf die Wirkung des zugleich vorhandenen Ionen sowie den sekundären Wechsel der Ionenkonzentration beruhen.

Im Falle, wo die Entwicklungsstufe der Sämlinge verschieden ist, muss der Ernährungswert gleicher Salzen nicht ganz dieselbe sein.

221. The effect of colchicine on meiosis in Aloineae. (With Japanese résumé). Dyûhei SATÔ. (B.M.T. **53**, 1939, 200-207, 1 pl., 11 text-figs., 231-232).

The summary of this paper by the author steht as follows:

1) The present study has been made on the chromosome behaviour during meiosis in Aloineae (n=7) after treatment with colchicine. In addition to the special effect of colchicine on the spindle mechanism, an effect on chiasma formation, chromosome spiralization and cell-membrane formation were also observed, in contrast to the effects induced by acenaphthene and other chemicals. In the premeiotic division, the second meiotic division and microspore division, ski-like pairs of chromosomes (c.f. c-pairing of LEVAN) are clearly seen after treatment with the colchicine, as in the somatic divisions of root-tips.

2) PMCs derived from the premeiotic tissue are found to be tetra- and octoploid and they may form 2n, 4n, 8n or 16n pollen grains after the formation of the tetrad, diad or monad. Multivalent, especially tetravalent formation in doubled PMCs is observed during metaphase I and irregularities due to the after-effect of colchichine are noted frequently. The chromatic bridges in 4n PMCs suggest that unusual crossing-over occurred between tetravalent chromosomes. Colchicine may induce and at least does not decrease other karyotype alterations besides the polyploidy which has been chosen most often for study by cytogenecists. Experiments on increasing stability or fertility by chromosome doubling may come up against an unexpected difficulty as in the present case, but such unstable polyploids as these amphidiploids may be rather more valuable for further breeding than the stable ones.

3) In the case of the treatment from the prophase, 7 bivalents aggregate at one side of a cell without spindle formation and divide there and later form a monad. At the beginning of colchicine treatment and in the process of recovery a multipolar division is induced, the chromosomes remain scattered all over the cell and polynucleate cells of asymmetric polyads are formed. Consequently heteroploid pollen grains are derived from asymmetric polyads.

222. Rice blast disease and manuring 2-9. (Japanese). Kanekichi SAWADA. (A.R.F. **35**, 1937, 22-31, 111-118, 182-189, 251-259, 383-387, 444-449, 655-656 with numerous tables).

The author's field experiments on several rice strains executed in Formosa during several years concerning the relation existing between the breaking of the blast disease and manuring have led him to the following general conclusions.

Among three essential elements of manuring, viz. nitrogen, phosphate and potash, the first only is closely connected with the invasion of blast disease. Parallel to the increase of the quantity of nitrogen in manure the injurious effect of disease gradually rises up. Before the earing leaves are damaged, leading to more or less intense inhibition of the plant growth, and after the earing the culm-nodes, the neck as well as the panicle itself are injured, causing the diminution of the grain size and the abundant production of sterile grains.

The histological studies of diseased stocks will elucidate the reason of the facts above indicated. When the manure is too rich in nitrogen, though the area of leaves becomes large, their thickness decreases, and the walls of their epidermal cells become thinner than usual, and besides both the number and size of stomata increase. Also if the histological structure of culm-node is examined, it will be seen that not only are exactly the same abnormalities just mentioned concerning leaves observed, but also the sclerenchyma cells composing their tissue diminish, and the soft parenchymat-

ous cells are much developed. All these facts will naturally lead to the diminution of the resistance of the rice plant against the invasion of blast disease.

223. Utilization of nitrate and ammonia nitrogen by plants. VIII. The physiological relation among phosphoric acid, potash and the different forms of nitrogen nutrients. (Japanese with English résumé). Kisaburo SHIBUYA and Hideaki SAEKI. (J.S T.A. **11**, 1939, 66-75).

The authors' experiments are concerned with the influence of the variable quantity of the three essential elements, viz. potash, phosphate and nitrogen upon the utilization of ammonia or nitrate nitrogen in paddy rice plants.

The variation of quantity of the three essential elements as applied as nutrients does not cause any alteration in the utilization of ammonia nitrogen by paddy rice plants, which will speak for their ammophyte nature. When potash is deficient the depression of yield will result, and this more conspicuously in ammonia experimental plots than in nitrate ones, while the deficiency of phosphoric acid will give rise to just the reverse effect. The difference of the forms of nitrogen (ammonia or nitrate) has a certain influence upon the absorption of potash and phosphoric acid: the uptake of ammonia nitrogen will cause the greater absorption of phosphoric acid than in the case of the uptake of nitrate nitrogen, while the uptake of the latter will contribute to the greater absorption of potash.

224. Experiments of the treatment of tomatoes with colchicine solution. (Japanese). Tamaki SHIMAMURA. (J.J G. **14**, 1938, 304-308, 5 text-figs.).

Polyploids of tomatoes were got already sometimes ago by the decaptiation callus-method. The author describes in this article his experiments of inducing the polyploidy in tomatoes by the colchicine treatment. The first method consists in putting seeds in colchichine solution for some time duration. In the seedlings the length growth of young root was inhibited by this treatment, while stems became much thickend. Though a few tetraploids were obtained, many seedlings died in the solution. The second method consists in putting 2% colchicine solution mixed with lanolin between two cotyledons before the leaf development, so as to let it act on the growing point. The result of this treatment seems to be better than that of the first method for getting polyploids.

Tetraploid *Lycopersicum pimpinellifolium* is pretty fertile, while tetraploid *L. esculentum* is highly sterile.

The mixoploid plants, i.e. those with both diploid and tetraploid shoots were met with in some cases.

225. Cytological studies of polyploidy induced by colchicine. Tamaki SHIMAMURA. (Cyt. **9**, 1939, 486-494, 18 text-figs.)

By treating the root-tip of *Allium Cepa* by 0.4% colchicine solution the author has observed its effect leading to abnormal mitosis. In treated materials the twisted halves of the chromosomes become gradually loosend from each other to be finally in close contact at the insertion region only, and as their free ends tend to separate from each other, the whole looks like a letter X. After the separation of the chromatids of each chromosome they arrange themselves as if surrounding some spherical body which the author thinks to be the spindle in degeneration. The chromosomes become vesiculated, and the adjacent ones approaching to each other, the dumb-bell-shaped nucleus is formed. Since each chromosome has divided into the two chromatids as above indicated, the tetraploidy is the result. No cytokinesis occurs and a large

restitution nucleus or two nuclei are formed and frequently the latter fuse together to form a tetraploid nucleus.

The abnormal mitosis above indicated is due clearly to the inhibition of the spindle formation by the colchicine treatment, and to the consequent inability of the movement of the daughter chromosomes to the opposite poles. It is to be added, that the normal mitosis may again take place in the treated materials if they are put in pure water for some time.

The author has further announced that the effect of the colchiné treatment differs even in the same tissue of the same root-tip according to the different stages of nuclear division and as whether the cells are vigorously growing or are in dormant state. To cite a few instances, the young resting nucleus in the meristem is more resistant against the colchine action than that ready to divide, so that while after the treatment abnormal mitosis was observed in the upper part of the meristem, the usual mitosis was seen to take place in its lower part. Again, while in the meristematic cells of the beginning of lateral roots the polyploid nuclei were observed, the diploid nuclei only were seen around them, etc.

226. Effect of the action of acenaphthene and colchicine upon the pollen mother-cells of *Fritillaria verticillata* WILLD. var. *Thunbergii* BAKER. (Japanese). Tamaki SHIMAMURA. (J.J.G. **15**, 1939, 179–180, 2 text-figs.).

Young flower-buds of *Fritillarai verticillata* var. *Thunbergii* were immersed in water solution of colchicine (0.01 and 0.1%) for 4 days. After being fixed and stained the pollen mother-cells therein contained were examined. Abnormal mitosis was seen. Besides the monads containing 4n chromosomes the tetrads and cells containing a large number of small nuclei were seen. Such diversity is due to the difference of the effect in various stages of the development of PMC. When the solution acts in the prophase the result is the monad, while when it acts during the metaphase, many small nuclei are formed.

When the material is treated with acenaphthene in sublimation the abnormal nuclear division takes place just as in the case of the colchicine treatment and leads to the formation of many small nuclei, but since acenaphthene, in contrast to colchicine, has no power of inhibiting the formation of cell-wall, we will observe that one pollen mother-cell is divided into many cells, each containing small nuclei.

227. Ueber die wilden Chrysanthemen in Mittel-Europa. (Japanisch). Naomasa SHIMOTOMAI. (B.Z. **7**, 1939, 513–521, 14 Textfig.).

Der Verf., welcher früher verschiedene japanische *Chrysanthemum*-Arten karyologisch untersucht hatte, hat jetzt die gleichartigen Studien auf die mitteleuropäischen *Chrysanthemum*-Arten ausgedehnt. Die n-Chromosomenzahl bei solchen war wie folgt: *Ch. Leucanthemum*, *Ch. corymbosum*, *Ch. alpinum* je 18, *Ch. atratum*, *Ch. vulgare*, *Ch. macrophyllum* je 9, *Ch. maximum* ±72.

Die allgemeinen Schlüsse der Verfs. Studien stehen wie folgt: die mitteleuropäischen Chrysanthemen sind lediglich an den Ebenen und Bergen und niemals am Meeresstrand verbreitet, im Gegensatz zu den japanischen Arten. Die Chromosomenzahl ist dabei 9 oder 18 und soweit untersucht, gibt es keine höhere (ausgenommen bei einer zweifelhaften Art *Ch. maximum*), was zu den japanischen Arten im Gegensatz steht, indem bei den letzteren der Verf. nicht nur die haploide Zahl 9 oder 18, sondern auch 27 oder 36 und sogar 45 feststellen können hatte.

228. Ueber die Morphologie der Chromosomen bei 6 Arten von *Chrysanthemum*. Naomasa SHIMOTOMAI und Teiichiro TAKEMOTO. (J.S.H.U. **3**, 1939, 201-204, 47 Textfig.).

Chrysanthemum Makinoi MATSUMURA, *Ch. lavandulaefolium* MAKINO, *Ch. nipponicum* MATSUMURA und *Ch. coronarium* L. sind diploid (2n=18), während *Ch. indicum* L. tetraploid ist (2n=36). Die Verff. haben in dem vorliegenden Aufsatz die Abbildungen der Chromosomen aller diesen Arten ausgegeben. Danach sind die Chromosomen von *Makinoi* und *lavandulaefolium* untereinander sehr ähnlich und leicht unterscheidbar von denen der übrigen Arten. Bei *nipponicum* befinden sich die mit einem Trabant versehenen Chromosomen. Bei *coronarium* gibt es weder trabanttragende noch besonders kleine Chromosomen. Der Chromosomensatz der tetraploiden Art *indicum* hat grosse Aehnlichkeit mit dem von *lavandulaefolium*, ausserdem stimmen beide Arten in vielen Beziehungen morphologisch überein, woraus die Verff. von der Ansicht sind, dass diese beiden Arten systematisch sehr nah verwandt sein mögen.

229. Zellphysiologische Untersuchungen über die Geschlechtsunterschiede bei Pflanzen I. Ueber die H-Ionenkonzentration der Narbe bzw. Staubbeutel verschiedener Blüten. Y. SINOTÔ und H. NAKAMURA. (Cyt. **10**, 1939, 480-485, 8 Tabellen).

Die Experimente für die pH-Bestimmung der Narbe und des Staubbeutels an 3 zweihäusigen Pflanzen-Arten, 4 einhäusigen und 5 zweigeschlechtigen wurden ausgeführt, wobei es ergab sich, dass der pH-Wert immer beträchtlich kleiner nachgewiesen worden ist an der Narbe als an dem Staubbeutel bei derselbe Pflanze oder bei derselben Blüte einer Pflanze. Um ein konkretes Beispiel hervorzuheben, in *Pinus densiflora* pH 4,2 oder 6,2 bei der Narbe bzw. dem Staubbeutel. Das Gewebe des weibliche Blüten tragenden jungen Stengels zeigt pH 4,4, während dasselbe des männliche Blüten tragenden Stengels pH 6,0 aufwies. Die Keimung des Pollens geschieht am besten bei der pH der Narbe.

230. Studies on the formation of ascorbic acid (vitamin C) in plants. 1. The influence of light on the ascorbic acid contents in various etiolated seedlings. Tomota SUGAWARA. (Jap. J.B. **10**, 1939, 141-150, 3 text-figs. and 4 tables).

231. Studies on the formation of ascorbic acid (vitamin C) in plants. 2. The influence of radiation of different wave-lengths on the ascorbic acid content in etiolated seedlings. Tomota SUGAWARA. (Jap. J.B. **10**, 1939, 321-333, 4 text-figs. and 1 table).

232. Studies on the male gametophytes in Angiosperms. V. Colchicine treatment as a proof of the essential function of the spindle mechanism in the karyokinesis in the pollen-tube. (With Japanese résumé). Nobunori SUITA. (J.J.G. **15**, 1939, 91-95, 24 text-figs.).

The division of the male generative cell occurring within the pollen-tube has hitherto been held not to be of normal mitotic process. The author has, however, in his observation on the same process in *Crinum* and *Hippeastrum* confirmed the fact that the division goes on there quite in the same way as in ordinary somatic division. By means of the colchicine treatment he has observed that the process is prevented just as in ordinary mitosis, so that his view that the nuclear division under question goes on according to the same mode as in ordinary mitosis, has been confirmed.

233. Influence of physical and chemical factors upon the formation of appressoria in the conidia of *Piricularia Oryzae*. I. Influence of oxygen. Hashio SUZUKI. (Jap. J.B. **10**, 1939, 321–324, 1 plate).

234. Spicilegium pteridographiae Asiae Orientalis 17–18. (With Japanese résumé). Motozi TAGAWA. (A.PT.G. **8**, 1939, 20–31, 91–100).

3 species of *Lycopodium*, 1 of *Botrychium*, 1 of *Davallia*, 1 of *Athyrium*, 7 of *Dryopteris*, 3 of *Polystichum*, 2 of *Tectona*, 1 of *Elaphoglossum*, 2 of *Cicranopteris*, 1 of *Pteris*, 2 of *Asplenium*, 1 of *Hymenoasplenium*, 1 of *Diplazium*, 2 of *Ruhmera*; 9 of *Ctenitis*, 3 of *Ctenitopsis* (one of them *C. kusukusensis* (HAYATA) C. CHR. provided with diagnosis), 1 of *Thelypteris*, (*T. setigera* (BR.) CHING provided with a diagnosis), are reviewed. Some are the new combinations by the author.

235. *Ophioglossum Kawamurae* TAGAWA, a new species from Japan. (Japanese with Latin diagnosis). Motozi TAGAWA. (A.PT.G. **8**, 1939, 134–136, 1 text-fig.).

236. On the storage of mulberry seeds. (Japanese with English résumé). Ichizo TAKAGI. (R.B.T.I.S.C. **2**, 1939, 1–22).

Experiments were done for the preservation of mulberry seeds in the germinable state during a more or less long time. Besides the control, in which seeds were simply put in a room, they were treated in 20 different ways. Of these the preservation of seeds in a dessicator over $CaCl_2$ + 20% H_2O or 43.8% H_2SO_4 was most efficacious. Thus while the control seeds were found to live merely 4 months, those over one of the two reagents just mentioned were found to live as long as 14 years. Further, while in the control the germination to 90% was observed only within 1 month after cropping, in seeds over $CaCl_2$ + 20% H_2O such a high rate of germination was held during 84 months. Still further, it was observed that the water content of the control was 7-10%, while that over one of the two reagents was 4.1-4.2%.

The author has made experiments of preserving seeds in a dessicator containing H_2SO_4 in various concentrations, and found that in case of 43.8% H_2SO_4 the relative humidity in the dessicator is 48.

Thus the mulberry seeds with water content nearly 4% will retain their longevity most longly in the place of 48% relative humidity.

237. Brutkörperbildung bei *Spathoglossum pacificum* YENDO. Masahiko TAKAMATSU. (Sc. Rpts., T.I.U. **14**, 1939, 49-52, 2 Textfig. gruppe).

Der Verf. hat im Sommer 1938 beobachtet, dass die Oberfläche des Thallus von *Spathoglossum pacificum* YENDO (Dictyotaceae) dicht mit Fäden bedeckt wird, und zwar nicht selten so dicht, dass der Thallus wie ein Stückchen des Pilzes aussieht. Diese Fäden gehen aus den Rindenzellen hervor und wachsen mittels der Querteilung der Gipfelzelle; sie sind plasmaarm und ähneln etwas den Rhizoidzellen.

Die Entstehung der Brutkörper an diesen Fäden (Brutfäden) wurde vom Verf. studiert. Der Brutkörper ist von zweierlei Arten, entweder bandförmig oder verkehrteiförmig. Die erste Art, stellenweise ein- bis fünfzellreihig, entsteht an der Endportion des Brutfadens, ist dünnwandig und plasmareich, und er trennt niemals von dem Brutfaden aus. Die zweite Art Brutkörper ist 2-5 mm lang, wächst mittels den Längs- und Querteilungen heran und am basalen Teile desselben entspringen zahlreiche Rhizoiden. An jeder von diesen zwei Arten Brutkörper sind die Tetrasporangien ausgibildet. Bei der bandfömigen Art entstehen die letzteren immer seitlich, während an der verkehrteiförmigen sie meistens an der Seite, selten an der Fläche entstehen.

Unter den Dictyotaceen wurde bisher das Vorhandensein der Brutkörper bei *Dictyota* und *Zonaria* erwähnt. *Spathoglossum* bietet ein neues Beispiel dafür bei den Dictyotaceen.

238. Ueber die Morphologie der Chromosomen bei einer Art und zwei Bastarden von *Chrysanthemum*. Teiichiro TAKEMOTO. (J.S.H.U. **3**, 1939, 207–209, 5 Textfig.).

Die Chromosomenverhältnisse von *Chrysanthemum indicum* L. var. *procumbens* KITAMURA, welches aus China abstammt, stimmt völlig mit denselben von *C. indicum* aus Japan übereim.

Der F_1-Bastard *C. Makinoi*×*C. lavandulaefolium* zeigt 18 Chromosomen (Wurzelspitze). Die Chromosomen von diesen beiden Eltern-Arten sind voneinander ziemlich verschieden, doch scheint es, dass sie die Fähigkeit haben, bei der Mitose die Gemini auszubilden. Bei der Meiosis, nämlich, beobachtet man die Bivalente, selten die Univalente, welche an den ersteren durch eine frühere Aufspaltung angekommen sein mögen.

Der F_1-Bastard *C. lavandulaefolium*×*C. indicum*, welcher äusserlich zwischen beiden Eltern intermediär steht, zeigt 27 Chromosomen in den Wurzelspitzenzellen. Die unter Rede stehenden Chromosomen lassen sich ihrer Gestalt nach in 3 Sätzen ausgedrückt werden, und unter 3 kleinen Chromosomen davon ist der Trabant bei dem einen grösser als bei dem anderen. Bei der heterotypischen Teilung von PMZ sind die Tri-, Bi- und Univalente zu sehen, von denen die ersteren am zahlreichsten vertreten sind. Man kann daher sehen, dass die Genome von diesen beiden Eltern ähnliche Form haben und untereinander die Gemini auszubilden fähig sind.

239. Bacterial plant diseases in Japan. VII. Studies on the bacterial spot of tomato. (Japanese with English résumé). Seito TAKIMOTO. (A.P.S.J. **9**, 1939, 22–32, 3 text-figs.).

The author has found in respect to the spot disease of tomato prevalent in Corea that the disease is caused by *Bacterium vesicatorium*. The infection is through stomata and the tissues which are either injured or rarely uninjured. The causal organism overwinters in soil, as well as in infected leaves, stems and seeds.

240. Bacterial spot of *Cissus japonica* WILLD. (Japanese with English résumé). Seito TAKIMOTO. (A.P.S.J. **9**, 1936, 41–43, 1 text-fig.).

The disease is caused by non-motile rod-shaped bacterium, named *Aphanobacter cissicola* sp. nov.

241. Chromosome studies in Cyperaceae III. The maturation division in *Scirpus lacustris* L. with special reference to the heteromorphic pairing. Nobunori TANAKA. (Cyt. **9**, 1939, 533–556, 47 text-figs. and 25 microphotographs).

Some time ago the author has expressed his opinion that the large multivalent chromosome seen in the I-metaphase of pollen mother-cells in *Scirpus lacustris* f. *pictus* may be composed of 3 small chromosomes. The present article is chiefly concerned with the behaviour of the compound chromosome as well as its nature.

In maturation division under question the large compound chromosome will conjugate with 1, 2 or 3 small chromosomes to form one heteromorphic pair or not at all. Accordingly the chromosome number is variable, and lies between 18 and 25, of which the most frequent is 18 bivalents + 2 univalents + 1 heteromorphic multivalent. In the I-anaphase the latter was seen to segregate either equationally or reductionally according to the number of chiasmata between the compound

chromosome and the univalents attached to it. The compound chromosome has always separated slowly. In I-anaphase the meiosis goes on pretty regularly. In the II-anaphase the formation of chromatin bridges is rather remarkable, which will persist till the II-telophase.

Basing on the results of the present observations the author's hypothesis above indicated that the compound chromosome is made up of 3 small chromosomes has been confirmed.

The maturation division of pollen in *Scirpus lacustris* f. *zebrinus* was seen to go on much more regularly than in the case of f. *pictus*. Neither the compound chromosome nor the formation of chromosome bridge was here observed.

242. Chromosome studies in Cyperaceae V. Pollen development of *Carex grallatoria* MAXIM. var. *heteroclita* KÜKENTHAL. ex MATSUM. (Japanese with English résumé). Nobunori TANAKA. (J.J.G. **15**, 1939, 153–157, 13 text-figs.).

In *Carex grallatoria* var. *heteroclita* (2n=18) the author could observe in the I-metaphase of PMC a relatively large number of univalents (e.g. $4_{II} + 10_{I}$, $5_{II} + 8_{I}$), of which the components of each pair were situated very near to each other. In the II-metaphase no univalents at all were seen. The author is of the opinion that this partial instability of the chromosomes in the I-metaphase has been induced by an environmental influence, i.e. the extremely low temperature, which was prevailent in the mountaneous region where the material was collected.

One of the tetrad nuclei resulting after the maturation division grows much larger than any of the three others, and is separated by a septum from them. The latter which are also separated by the septa from each other soon become disorganized, though they seem to be able to divide by themselves. Now begins the formaion of the generative cell of pollen grain. At first one remaining tetrad nucleus above mentioned undergoes the mitotic division, and at its telophase the cell-plate which appears in the phragmoplast spreads along the outer contour of the daughter nucleus placed internally to bound it wholly, forming thus the generative cell of pollen. Another daughter nucleus which is placed externally and larger than the generative nucleus, represents the vegetative nucleus of pollen.

243. The vegetation of Kakizima, a group of reefs of natural oyster beds. (Japanese with English résumé). Misao TATEWAKI and Tosio YAMANAKA. (E.R. **5**, 1939, 1–18, 6 text-figs. and 20 tables).

Lake Akkesi, a lagoon located in the south-eastern part of Hokkaidô, facing the Pacific Ocean, is characterized by the presence of reefs of various size, which consist mostly of old oyster shells and mud containing plant remains, and partly of sand and shell fragments. 48 species of Phanerogams belonging to 19 families are found there, which consist of 20 psammophytes, 12 perophilous halophytes, 4 oxylophytes, 5 mesophytes and 7 weeds. If we classify them according to the life form in the sense of RAUNKIÄR, they will belong mostly to hemicryptophytes (33 species), the rest to the therophytes (10), and a few to chamaephytes (2) and cryptophytes (3). In respect to the seasonal aspects three principal types may be distinguishable, viz. preaestival, aestival and autumnal. The plant community may be classified into three societies, viz. *Elymus mollis—Senecio pseudo-arnica*, *Triglochin maritimum—Glaux maritima*, and *Aster Tripolium—Puccinellia kurilensis*. Since the plant community is frequently disturbed by floating ice and wave, its physiognomy is rather complicated.

244. Heterochromosomen der Lebermoose VIII. (Japanisch m. deutsch. Zfg.). Seizi TATUNO. (B.M.T. **53**, 1939, 29–32, 7 text-figs.).

Die Chromosomformeln von 5 Arten von Hepaticae sind angegeben: *Plagiochasma nipponica* und *intermedia* je 9, *P.* sp. 9=8+h, *Riccia fluitans* u. *R.* sp. je 8.

245. Some considerations on the classification of *Oryza sativa* L. into two subspecies, so-called "*Japonica*" and "Indica". Hirosi TERAO and Usaburô MIDUSIMA. (Jap. J.B. **10**, 1939, 213-258, 10 figs. and 21 tables).

246. On some little known algae with special reference to the species of *Bostrychia*. (Japanese). Jun TOKIDA. (B.Z. **7**, 1939, 522-530, 10 text-figs.).

Dermocarpa Farlowii BÖRG., which was announced by BÖRGESEN to be found in Japan, should be rightly *D. protea* SETCH. et GARD.

Bangia ciliaris CHAM. should be *Erythrichra japonica* TOKIDA.

Bostrychia Moritziana (SARD.) J. AG. is found in Japan, and besides the three other species of this genus were discovered in Japan, viz. *B. simpliciusla* HAW., *B. tenella* J. AG., and *B. dichotoma* TOKIDA.

247. Enumeration of marine algae from Micronesia. (Japanese). Jun TOKIDA. (S.S.I. **2**, 1939, (16)-(26)).

The author has made a collection of marine Micronesian algae (Cyanophyceae, Chlorophyceae, Phaeophyceae and Rhodophyceae) in May 1938 during 5 successive days.

An extensive list of the names of all marine algae in Micronesia which have been hitherto recognized, is given, incl. those collected by the author himself.

Remarks are made on some algae collected by him. The literature ends the paper.

248. Some findings on the chromosome structure in *Tradescantia reflexa*. (A preliminary note). (Japanese). Tôru TOYOHUKU. (J.J.G. **14**, 1938, 291–292, 6 text-figs.).

Some time ago KUWADA and SHINKE have found in *Tradescantia reflexa* that sometimes the sister chromatid major spirals are interwined to each other to form a pair of relational spirals (cf. this JOURNAL **9**, (158), No. 540). The present author could confirm the data of KUWADA and SHINKE, but according to him the occurrence of relational spirals is much more general than announced by these two authors. Thus, not rarely all chromosomes of one pollen mother-cell shows the structure now under question, and at least it may be said that the frequency of its occurrence is very high. At the end of the I-metaphase the relational spirals become rare, and the separate ones increase correspondingly, and at the end of telophase almost no relational spirals are met with.

249. Plantae boninenses novae vel criticae. XII. (With Japanese résumé). Takasi TUYAMA. (B.M.T. **53**,1939, 1–7, 3 text-figs., 33–44).

Among a number of plants enumerated the following new species are provided with their respective diagnoses and figures : *Gastrodia boninense* and *Portulaca boninensis*.

250. Orchidaceae novae micronesicae. (With Japanese résumé). Takasi TUYAMA. (B.M.T. **53**, 1939, 52-59, 5 text-figs., 91–92).

The following new orchidaceous plants are described: *Habenaria palawensis* sp. nov., *Dendrobium guamense* AMES var. *rotense* var. nov., *Phreatia Ryozoana* sp. nov., *Robiquettia palawensis* sp. nov., *Sarcanthus draco* sp. nov., *Zeuxine palawensis* sp. nov.

251. Experimentelle Untersuchungen lebender Zellen in der Teilung. III. Die Einwirkung der Dämpfe verschiedener Substanzen auf die Mitose bei den *Tradescantia*-Haarzellen. Bungo WADA. (Cyt. **10**, 1939, 460–479, 39 Textfig.).

Der Verf. hat die Lebendbeobachtung der Staubfadenhaarzellen von *Tradescantia reflexa* ausgeführt, um die Einwirkung verschiedener flüchtigen Substanzen und einiger Gasen darüber zu untersuchen. Die benutzten Chemikalien wurden in 4 Gruppen eingeteilt, und die Ergebnisse der Experimente sind tabellarisch angegeben.

Gruppe I—die Dämpfe von Chloroform, Kohlenstofftetrachlorid, Methylalkohol, Aethylalkohol, Aether, Anisol, Xylol, Benzin und Leuchtgas. Einwirkung: die Entmischung des Zytoplasmas.

Gruppe II—die Dämpfe von n-Butylalkohol, Aceton, Formalin, Kohlenstoffbisulphid und Benzol. Einwirkung: zuerst die Verflüssigung und dann die Entmischung des Zytoplasmas. Die Teilungsanomalien werden oft verursacht durch n-Butylalkohol, Kohlenstoffbisulphid und Aceton, z.B., die Ausbildung von Syndiploidkernen.

Gruppe III—die Dämpfe von Cyan- und Schwefelwasserstoff und Essigsäure. Einwirkung: Gelifikation des Zytoplasmas und die Entmischung desselben ist nicht merklich. Abnorme Teillungsfiguren sind durch den Dampf verdünnter Essigsäure erzeugt.

Gruppe IV.—Ammoniakdampf. Einwirkung: zuerst die Quellung des Zytoplasmas und der Chromosomen und dann die Entmischung des Zytoplasmas.

252. Ueber den Einfluss des Wuchsstoffs auf das bioelektrische Potential der Myxomyceten-Plasmodien. (Japanisch m. deutsch. Zfg.). Atsushi WATANABE, Masahiko KODATI und Saburo KINOSHITA. (B.M.T. **53**, 1939, 32–42, 9 Textfig.).

Bei den Plasmodien von *Didymium nigripes* var. *xanthoppus* vergrössert die Applikation des Heteroauxins gewisser Konzentration an den Frontteil derselben die Potentialdifferenz zwischen dem letzteren und dem Hinterteil, wobei die 150 γ/L Lösung am wirksamsten und die 1250 γ/L am schwächsten einzuwirken nachgewiesen worden sind. Die Schwellenkonzentration liegt bei 39 γ/L. Die Wirkung des α-Methylbeteroauxins an dem genannten Vorgang, erweist sich etwas schwächer als die des Heteroauxins. 1-Histidin, Dinitrophenol und Harnstoff üben einen gleichen Einfluss aus. Die Endschlüsse der Verff. stehen wie folgt: das Heteroauxin bewirkt wahrscheinlich durch die Aktivierung der oxydoreduktiven Stoffwechselvorgänge die Steigerung des bioelektrischen Potentials am Frontteil des Plasmodiums, woraus sich die Förderung der Plasmaströmung durch Heteroauxin als auch die positive Chemotaxis des Plasmodiums gegen Heteroauxin erklären lassen.

253. Ueber das Blühen der Süsskartoffel (*Ipomoea Batatas*). (Japanisch m. deutsch. Zfg.). Kiyohiko WATANABE. (P.C.S.S.J. **10**, 1938, 322-332, 4 Textfig.).

Es ist in Japan seit langem bekannt, dass sowohl in Formosa als in Ryûkyû Inseln die Süsskartoffeln reichlich blühen, aber auf den eigentlichen japanischen Inseln sie sehr selten zum Blühen kommen. Nach den Beobachtungen des Verfs. entstehen ihre Blütenknospen erst im Spätherbst, und indem im eigentlichen Japan entweder die Süsskartoffeln schon im Spätherbst geerntet werden oder nach dieser Zeit der oberirdische Teil den Frostschäden ausgesetzt ist, wird die Seltenheit des Blühens im eigentlichen Japan leicht verständlich sein.

Weiter, nach den Beobachtungen des Verfs. am Hirosimagegend (Südjapan) können die Süsskartoffeln die Früchte tragen können, wenn sie vor 20.September geblüht haben. Die später produzierten Blüten werden ganz unfruchtbar sein wegen der niederen Temperatur.

Es ist auch zu bemerken, dass die an Knollen armen Individuen leichter blühen als dieselben, welche daran reich sind.

Es ist oft betont hier, dass die Stecklinge des umgekehrten kriechenden Stengels der Süsskartoffel keine Knollen produzieren können, aber die Studien Verfs. haben festgestellt, dass diese Behauptung keineswegs richtig ist, indem nach den Beobachtung des Verfs. solche Stecklinge die Knollen reichlich tragen werden.

254. Studies on the fire-blight disease of udo salad plant. (Japanese with English réeumé). Tatuo WATANABE. (A.P.S.J. **8**, 1939, 271-297, 12 text-fig. and 16 tables).

The paper contains the results of the morphological, physiological and pathological studies on *Phoma Araliae* COOKE et MASSEE var. *microspora* WATANABE parasitic on *Aralia cordata* (salad plant, called udo in Japanese). Leaves, stems and flowers of this plant are invaded by this fungus. Pycnidia are developed under the epidermis. The pure culture from a single spore was done on various media and concerning it various observaions were practised. For mycelial growth optimum temperature 22-25° C, minimum 10° and maximum 30-35°. The growth takes place at pH between 2.2-3.0 and 8.6; optimum 6.8. The most favourable concentration of sucrose for mycelial growth is 2% added to liquid or solid medium; 1% and 5% come next. For the development of germ-tube from the pycnospore optimum temperature 25°, 28° and 22°; at 35° and 15° no germination will take place. The same process will occur between pH 1.8-2.2 and 8.6, optimum 6.8. The addition of 2% sucrose is most favourable for the same process; 5% and 2% come next.

Immersion of mycelia in hot water 55° and 60° kills them in 80 and 60 minutes respectively. No growth was seen in 0.005% mercuric chloride and 0.3% copper sulphate.

Inoculation experiments by pycnospores were successful on wounded stems and leaves of the host, the incubation period being almost 7-10 days.

255. On the applicability of the pre-heating treatment in the extraction of tissue fluid from cotton leaves. Noboru YAMADA. (J.C.A., T.I.U. **14**, 1939, 417-428).

In order to get the press juice of living cells which is at least the nearest approach to the original tissue fluid, various methods have hitherto been employed. Among these the pre-freezing and the pre-heating methods are most prominent. The author has compared experimentally the results of these two methods, and recommends the pre-heating treatment as easier and less expensive, his experiments having been performed on the Asiatic and the upland cotton plants.

His procedure consists first of all in pressing the samples into the cork-stoppered glass tubes. For freezing these tubes were left in an ice-salt mixture for 24 hours, while for the pre-heating treatment the glass tubes were fitted with an aluminium tube and placed in boiling water. After such pre-treatment, the juice was expressed out from the samples, and the volume, the osmotic value and the pH-value of sap were determined. It was found that the amount of sap obtained was nearly the same in either treatment. The osmotic value was generally slightly higher in the pre-heated materials than in the prefrozen ones, but the difference is so slight as to be almost negligible. The pH-value was much higher in the pre-heated samples than in the other, so that the pre-heating method is not utilizable in the case of pH-determination.

Finally it should be remarked that the most suitable time length for heating was from 15 to 30 minutes. The longer heating is not necessary and the shorter one is not sufficient.

256. On the development of the embryo-sac, and fertilization in cotton plants. Noboru YAMADA. (J.C.A, T.I.U. **14**, 1939, 407–415, 3 pls. .

The studies of the embryo-sac formation and fertilization referred to in this article is concerned with certain species of Asiatic and upland cotton plants. No qualitative differences have been observed between these two strains in this respect.

The floral organs of the cotton plants develop in acropetal succession. One subepidermal cell of the ovule develops into the archesporium, where a megaspore mother-cell takes its origin. After two successive divisions, a linear tetrad is formed, and the cell situated at the chalaza end functions as the embryo-sac, while the remaining three cells degenerate and form a shapeless mass. Three antipodals, one egg, two synergids, and two polar nuclei are produced in usual way. The polar nuclei which are in contact come into fusion just after the fertilization, and then receive one male nucleus to enter into the triple fusion. The antipodals degenerate soon after their formation. Fertilization occurs 24-30 hours after pollination.

In the course of fertilization the lint begins to develop, though the this process does not depend neither upon pollination nor on fertilization.

257. On the behavior of pollen-tubes which is observed in the hybridization between Asiatic and American cotton plants. (Japanese). Noboru YAMADA. (B.Z. **7**, 1939, 559–566, 729–736, 12 text-figs.).

The hybridization between the Asiatic and American cotton plants has been performed by a number of investigators, and the task was generally considered to be very difficult on account of very low rate of success. Besides, in some cases only one of two reciprocal hybridizations was successful.

The author has performed the hybridization between two Asiatic and one American cotton strains with success. No special difference was recognized between the two reciprocal hybridizations. According to the author, in either of two reciprocal hybridizations the greater majority of pollen-tubes pass through the basal part of the style 12 hours after pollination. The observation of FENG, who states that the pollen-tube cannot reach the basal part of the style unless 24 hours after pollination, is in contrast to the author's statement. This difference is due perhaps as he states, to the temperature relation: the FENG's experiment was done within a room with the constant temperature 25°C, while the author's is concerned with the plants out-of-door at 35°C.

When the germination rate of pollen on the stigma in case of self-pollination on one hand, and that in case of cross-pollination on the other are compared to each other, it will be seen that that rate is somewhat lower in the latter case than in the former. Further, in case of cross-pollination we will observe the breaking of pollen-tubes and their malformations within the stylar tissue of the other strain. Notwithstanding all such facts, a great number of pollen-tubes seem to reach safely the embryo-sac and to perform the fertilization.

The determination of the osmotic value of the leaf-tissue in the Asiatic and American cotton strains has indicated that in the former it is 2-3 atm. higher than in the latter. Further, the limit of sugar solution for the bursting of pollen grains is 1.5 mol. in the American strain, and somewhat higher in the Asiatic ones. Such difference may be, as the author thinks, the cause of the bursting of pollen and the production of malformations in pollen-tubes often seen in the stylar tissue of the other strain, as above mentioned. The pollen-tube with a certain osmotic value, passing through the stylar tissue with a lower value, may absorb too much water,

so as to lead to its breaking (Asiatic within American). On the other hand, the pollen-tubes with lower osmotic value within the stylar tissue with a higher value, is not able to absorb water sufficient for its perfect formation and this will lead to various malformations (American within Asiatic).

258. Ueber den Flavingehalt der Mikroorganismen. Seizaburo YAMAGUTCHI und Shoichiro USAMI. (Cyt. **9**, 1939, 419–429).

Nach der Lumiflavinmethode von WARBURG und CHRISTIAN wurde der Gehalt des Flavins (Vitamin B_2) von 15 Bakterienarten, d.h. *Bacillus subtilis*, *Bac. mesentericus vulgatus*, *Bac. mycoides*, *Bac. prodigiosus*, *Bacterium coli communior*, *Sarcina* sp. *Staphylococcus citreus* sowie 2 *Proteus*-, 3 *Pseudomonas*- und 3 *Micrococcus*arten, so wie auch von 3 Heferassen, d.h. rein kultivierte Bier- und Bäckerhefe und käufliche FLEISCHMANN's Hefe, fluorometrisch bestimmt. Der Flavingehalt liegt bei *Microc. ochraceus*, *Microc. citreus*, *Pseudomonas pyocyanea* und *Bact. coli communior* in der Höhe von 10–15 γ Lumiflavin pro g Trockengewicht und bei allen anderen Bakterien- und Hefearten stets unter 10 γ; bei *Pseudom. fluorescens albus* und *Bac prodigiosus* sogar unter 1.5 γ.

Die erhaltenen Flavinwerte weichen zuweilen ziemlich deutlich von den von anderen Autoren gefundenen Werten ab, z.B. beträgt bei *Bact. coli* der Lumiflavinwert 18-27γ pro g nach SCHÜTZ und THEORELL, unter 1 γ nach PETT und 3-4 γ nach unserer Analyse. Bei *Prot. vulgaris* fanden wir den Wert 9-14 γ, aber gar kein Flavin nach PETT. Dieser nicht unbebeutende Unterschied scheint möglicherweise durch die Verschiedenheit der Versuchsstämme, der Kulturbedingungen, der Analysenmethoden, u.s.w. verursacht zu sein.

Einige Fehlerquellen, die bei der quantitaativen Bestimmung des Flavins in Betracht kommen, d.h. die Zersetzung des Flavins bei der alkalischen Photolyse, der Verlust des Flavins beim Adsorptions-Elutions-Verfahren sowie die Verschiedenheit zwischen photometrisch und fluorometrisch bestimmten Flavinwerten, wurden etwas ausführlich erörtert. Auch wurde die Rolle des Flavoproteins bei der cyanhemmbaren bzw. cyanresistenten Zellatmung der Mikroorganismen kurz diskutiert.

Verff.

259. Ueber den Einfluss der Wasserstoffionenkonzentration und der Neutralsalze auf die Vitalfärbung pflanzlicher Protoplasten mit sauren Farbstoffen. G. YAMAHA und K. NOMURA. (Sc. Rpts., T.B.R.D., No. **65**, 1939, 27–42, 14 Tabellen).

Als das Untersuchungsmaterial wurden die Oberhautzellen von *Allium Cepa* und als die sauren Farbstoffe für die Vitalfärbung Erythrosin, Eosin, Bengalrose und Aurantia verwendet. Bei dem Vitalfärbungsversuch wurde es immer festgestellt, dass der pH-Grad, welcher niedriger ist als 6,0 die Färbung begünstigt und dass bei demselben pH sie nach dem Permeabilitätsgrad der Säuren sich verschieden verhält, so z.B. bei der Anionenreihe $SO_4 < ClNO_3 < H_2PO_4 < CH_3CO_2$. Die Zufügung gewisser Neutralsalze von einem bestimmten pH fördert die Vitalfärbung, wobei bei der gleichen Normalkonzentration der Chloride bei demselben pH-Grade der Farbstofflösung die Wirksamkeit der Kationen wie folgt ist: $K < Ca < Mg < Al$.

Die Vorbehandlung der Materialien mit der Neutralsalzlösung wirkt auf die Vitalfärbung entweder hemmend oder fördernd, je nachdem die Kationen ein- bzw. mehrwertig sind.

Um auf die oben erwähnte Tatsache Licht zu werfen, haben die Verff. einen Modellversuch mit Filterpapier, Seidentuch oder Agargel ausgeführt, und daraus haben sie die folgenden Schlüsse gezogen: 1. die oben geschilderte Wirkung der

Neutralsalze auf die Vitalfärbung mit sauren Farbstoffe mag rein physikochemisch erklärt werden und 2. bei der Vitalfärbung mag die elektrokinetischen Vorgänge eine wichtige Rolle spielen.

260. Ueber den Einfluss der Ultraschallwellen auf die Wurzelspitzenzellen von *Vicia Faba*.—Ein Orientierungsversuch. G. YAMAHA und R. UEDA. (Cyt. **9**, 1939, 524–532, 40 Textfig.). (Für einen in japanisch geschriebenen Aufsatz, dessen Inhalt demselben des obengenannten ganz gleich ist, vgl. B.Z. **7**, 1939, 1001–1007).

Durch die Einwirkung von den durch die hochfrequenten Schwingungen ausgezeichneten Ultraschallen wurden die Zellstrukturen mehr oder minder gestört, um verschiedene Anomalien zu verursachen. Die Verff. arbeiteten mit den Wurzelspitzenzellen von *Vicia Faba* und nach einer mehr oder minder langdauernden Wirkung der Ultraschallwellen wurden sie sofort oder nach einiger Zeit fixiert und beobachtet. Die Wirkung der Ultraschallwellen ist entweder thermisch oder mechanisch. Die thermische Wirkung ähnelt demselben hoher Temperatur, wie z.B. bei 30-40° Wasser, oder höherer, wobei alle mögliche Strukturen- und Mitosen-Anomalien entstanden sind, so z.B. trennt sich das Cytoplasma von der Zellmembran und wird vakuolisiert. Der Zellkern wird auch vakuolisiert, und die einzelnen Chromosomen aggregieren sich miteinander oder werden zerrissen.

Die mechanische Wirkung der Ultraschallwellen tritt ein, ebenso wie bei Zentrifugieren, und führt zu den Mitosenanomalien.

Es ist zu bemerken, dass die Schwingung der Ultraschallwellen an den Knoten am geringsten und an den Bäuchen am höchsten wirkt, und dabei wirkt die erstere auf die Protoplasmamasse drückend, und die letztere darüber spannend, sodass sogar in ein und demselben Schnitt man diejenigen Anomalien nachweisen kann, welche Nekro- und Metaformen entsprechen. Z. B. Homogenisierung und Schrumpfung des Zytoplasmas und Karyoplasmas usw. einerseits, und filzig-gerinnseliges Zytoplasma, Hofbildung um den Nukleolus usw. anderseits.

261. Die Wuchsstoffverteilung in den euphotometrischen Blätteren von *Fatsia japonica*. (Mit japan. Zfg.). Gingoro YAMANE. (B.M.T. **53**, 1939, 102-113, 145–146).

Der Inhalt des vorliegenden Aufsatzes stimmt im ganzen mit dem des Verfs. früheren betreffend das gleiches Thema überein (vgl. diesen JOURNAL **9**, (182), Nr. 625).

Wenn eine Längshälfte der Spreite von *Fatsia japonica* verdunkelt und die andere von oben her elektrisch beleuchtet wird, so wird man nach einigen Stunden sehen, dass die Wuchsstoffmenge viel grösser ist in der ersteren als in der letzteren (nach WENTs *Avena*-Methode geprüft). Die weitere Beobachtung hat ihm gezeigt, dass der Wuchsstoff fast ausschliesslich in dem Gefässbündel des Blattstieles nachweisen lässt, sodass man sieht, dass das Gefässbündel den Hauptbahn seines Transportes darstellt.

Der Endschluss des Verfs. ist, dass die seitliche, dem Schatten entsprechende Bewegung der Blattspreite von *Fatsia japonica* eigentlich auf die grössere Menge des Wuchsstoffes auf die verdunkelte Seite der Blattspreite als auf die beleuchtete beruht. Alles bestätigt somit die BALL und RAYDTsche Theorie und steht im Kontrast zu der Angabe LAIBACHs.

262. On the cytokinesis in some Angiosperms, with special reference to the middle lamella initial (MLI) formation and the phragmoplast. Kono YASUI. (Cyt. **10**, 1939, 557–574, 26 text-figs.).

Observations were made chiefly on living materials, though fixed ones were also

used for control. Those on the somatic division in living stamen hair-cells of *Tradescantia* have given the following results. In the mitosis, in spite of the disappearance of nuclear membrane at the end of prophase, the atractoplasm and the cytoplasm remain clearly distinct. Fine granules begin to appear at the equatorial part of the phragmoplast, and they fuse together to form the middle lamelle initial (MLI). This process takes 5 to 12 minutes for its completion, so that the appearance of MLI is not sudden, as was stated by certain authors. Then we observe the penetration of cytoplasmic intrusions into the phragmoplast as well as cytoplasmic streaming over its surface and along the surface of MLI. It will be seen therefore that the plasma membrane which is directly in contact with MLI is not derived from the cell-plate, as stated by previous authors, but it is the surface membrane of the intruded cytoplasm of the mother-cell.

In the cytokinesis of PMC (*Fritillaria, Magnolia, Lilium*) each of the latter is bipartitioned at first by the phragmoplast across the equator or the MLI formation, and then follows the furrowing. In the case of successive tetrad formation this process is repeated in the first and the second division, whilst in the simultaneous tetrad formation the MLI formation is suppressed in the first division, and at the telophase of the second division a new phragmoplast appears between the neighbouring cousin tetrad nuclei, and then follows the division of PMC into four tetrads.

263. Cyanophyceae of Japan IV. (With Japanese résumé). Yūichi YONEDA. **(A.FT.B. 8, 1939, 32-49, 22 text-figs.).**

22 species belonging to 17 genera are contained in this article. It is rather remarkable that *Nostochopsis Wichmannii* WEB. VAN BOSSE which has been recorded previously from the Malay Archipelago and Africa, is found in the hot spring of Beppu. Besides, *Schizotrix maritima* sp. nov. is enumerated with its diagnosis.

264. Studies on the thermal algae of Hokkaido (1). (With English résumé). **Yūichi YONEDA. (A.BT.G. 8, 1939, 101-107).**

In this article the algae found in two hot springs of Hokkaido, viz. Bankei and Akan are enumerated. In the former the algal growth was found to take place in the hot spring between 25-53°C, though it may attain 70°C. Among the algae here enumerated the greater majority belong to the Cyanophyceae, with some Chlorophyceae and Diatomaceae. The algal growth is most vigorous at 50-53°C. *Mastigocladus laminosus, Phormidium laminosum* and *Synechococcus elongatus* var. *amphigranulatus* are always found.

In the hot spring of Akan the algae (Cyanophyceae and diatoms) occur in the hot spring water 45.1° and 64.2°C, and are represented by the same species of algae as found in the hot spring of Bankei, though here *Synechococcus elongatus* belongs to a different variety, *vestita*.

265. The action of some heavy metals upon the production of catalase in *Aspergillus*. (Japanese with English résumé). Fuji YOSHIMURA. **(B.M.T. 53, 1939, 127-536, 13 tables).**

Aspergillus oryzae, etc. was cultured in the solution purified by the adsorption method, and to this solution Ca-phosphate, Zn, Cu, Fe and Mn were added in order to study the action of each of them on the catalase activity of the fungus, as measured by the oxygen formation per weight unit of mycelium. Fe in high concentration, Zn, Cu and Mn in reduced concentration have led to the acceleration of the catalase activity. The action of Mn and sometimes of Cu in this respect was

rather indirect, because it is due to the inhibition of spherical cell formation and the acceleration of the conidial production, which generally counteracts the catalase activity (s. this JOURNAL **8**, (20), No. 77). If Mn will be eliminated its morphological influence just referred to will not appear, e.g. by the increase of Fe concentration the catalase activity was not especially diminished.

The high pH-value of the solution diminishes the catalase activity. Addition of heavy metals to the enzyme preparation in such a low concentration as used in the culture, has no direct influence on the catalase activity.

266. Cross experiments in Eufilicineae. (A preliminary note). (Japanese). Akira YUASA. (J.J.G. **14**, 1938, 295–296, 4 text-figs.).

The author has tried the cross experiments between several species of different genera of Eufilicineae, viz. *Matteucia, Polystichum, Dryopteris, Nephrolepis, Adiantum*. All crosses were unsuccessful, except *Matteucia Struthiopteris* × *Polystichum tripteron* (but not its reciprocal). In all unsuccessful cases, the spermatozoids do not enter the archegonia at all. In the cross *Matteucia* × *Polystichum* above mentioned, not only does the spermatozoid enter the archegonium, but further its penetration into the egg-cell was ascertained. The further behaviour was not traceable, and whether the embryo formation has taken place or not, is not clear.

The penetration of two spermatozoids into one egg cell was observed.

267. On the cytology of swarmspores in *Pseudoperonospora cubensis*. (Japanese). Akira YUASA. (P.J.S.A.S. **14**, 1939, 132–134, 3 text-figs.).

Swarmspores of *Pseudoperonospora cubensis* parasitic on cucumber were studied cytologically. They are oval and narrow anteriorly. Each is provided with two cilia, one of which is shorter than the other and directed anteriorly, while the other is longer and directed posteriorly. By staining we can discern one nucleus in the centre of the body, which acts positively towards FEULGEN, though slightly. The cytoplasm which occupies the greater part of the body is divisible into two parts: the posterior part is jar-shaped and contains many granules, while the anterior is transparent. In the latter one canal is running, on which the two cilia are inserted with one common basal body or blepharoplast at their base. Each swarmspore is provided with the cell-wall. When it comes to rest, the cytoplasm is pressed on one side, from which the germ-tube will develop.

Eight swarmspores are formed in one conidium after three successive divisions.

268. Studies in the cytology of Pteridophyta XVI. Plastids and chondriosomes in the life cycle of polypodiaceous plants. (With Japanese résumé). Akira YUASA. (J.J.G. **15**, 1939, 47–61, 63 text-figs.).

Whether plastids on one hand and chondriosomes on the other are genetically identical (at least partially) or quite district bodies, is at present the object of serious controversy among the cytologists. Basing on the cytological studies of a number of polypodiaceous plants (in all 9 species of the genera *Adiantum, Athyrium, Dryopteris, Matteucia, Polystichum, Pteris, Notogramme*) the author tried to cast some light on this problem, and reached the conclusion, that these two kinds of bodies are genetically quite distinct.

By means of vital staining with aqueous solution of Janus green the chondriosomes stain light bluish green, while the plastids (chloroplasts, leucoplasts) remain unstained. Besides, the .plastids are almost always larger than the chondriosomes. The author has examined the spores, the prothallium cells, incl. the wall- and the

primary sporogenous cells, and could discern both bodies assembled in one and the same cell, but never failed to distinguish them, owing to the two characteristics above indicated. So also was it the same in the spermatid; in the formation of spermatozoids from the latter it was remarkable that both bodies are sucked in by the spiral of the metamorphosed nucleus, and then they were cast off, and in this case they could be clearly distinguished. The author has further examined the egg cell, the sporophytic cells as well as the sporogenesis, and could always confirm what he has seen in other cases.

269. Studies on the cytology of Pteridophyta. XVII. The chromonema structure of the spermatozoid nucleus in *Isoetes japonica*. (Preliminary note). (With Japanese résumé). Akira YUASA. (B.M.T. **53**, 1949, 251–256+1, 10 text-figs.).

Notwithstanding the fact that *Isoetes japonica* has been studied by several botanists in morphological respect, the structure of its spermatozoid nucleus was considered to be quite homogeneous. The author could elucidate its chromonemata structure by the performance of the following method: the spermatozoids are exposed at first to ammonia vapour, fixed in osmic acid, and stained with gentian violet. The chromonemata of the nucleus are then unravelled, so that one can clearly distinguish each individual chromonema. Further, the cilia-bearing portion and the plasmic band are swollen independently of the nucleus, which proves, as the author states, that these two portions are differentiated from the spherical blepharoplast, and are attached externally on the surface of the nucleus to coalesce with the latter.

270. Critical observations on the origin of the blepharoplast and centrosome in plants. Akira YUASA. (Jap. J.B. **10**, 1939, 259-284).

271. Studies in the cytology of reproductive cells VI. On the motor apparatus of the flagellated cells in some lower plants. Akira YUASA and Yosito SINOTÔ. (Cyt. **9**, 1939, 441–446, 5 text-figs.).

The materials for the authors' cytological studies were *Euglena*, *Haematococcus*, *Drapalnardia* and *Pseudoperonospora*. The details concerning the cytological structure are here omitted (about *Pseudospora cubensis* cf. No. 267), and here what are concerned with the motor apparatus only are reviewed.

Euglena and the swarmspores of *Pseudoperonospora cubensis* are provided each with one flagellum, and *Haematococcus* with two. The swarmspore of *Drapalnardia* is either two- or four- flagellate, though in this article the latter only was under discussion.

A basal body is always found at the base of the flagellum, generally one for each, but in the swarmspore of *Pseudoperonospora* only one common basal body for two flagella is present. The basal body is connected to the nucleus by cytoplasm, which the authors call "conjectionplast." In *Euglena* and the swarmspore of *Pseudoperonospora* studied by the authors the conjectionplast could not be observed, though there may be probably some connection between them.

In all the authors think that the movement of the flagellum is due to its cooperation with the basal body as well as conjectionplast.
